

# Priručnik za QIAamp® DSP Virus Spin Kit



Inačica 1

Za in vitro dijagnostičku uporabu



**REF** 61704



1062686EN



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,

NJEMAČKA

**R6** **MAT** 1062686HR



## **QIAGEN Sample and Assay Technologies**

QIAGEN je vodeći pružatelj inovativnih tehnologija uzorkovanja i ispitivanja koje omogućuju izolaciju i detekciju sadržaja bilo kojeg biološkog uzorka. Naši napredni proizvodi i usluge visoke kvalitete osiguravaju uspješno dobivanje rezultata za uzorke.

### **QIAGEN postavlja standarde u sljedećim područjima:**

- pročišćavanje DNK, RNK i proteina
- ispitivanja nukleinskih kiselina i proteina
- istraživanje mikroRNK i RNAi
- automatizacija tehnologija uzorkovanja i ispitivanja

Naša misija jest omogućiti vam postizanje izvanrednog uspjeha i nova revolucionarna otkrića. Dodatne informacije potražite na web-adresi [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Sadržaj

<b>Namjena</b>	<b>4</b>
<b>Sažetak i objašnjenje</b>	<b>4</b>
<b>Načela postupka</b>	<b>4</b>
Automatizirano pročišćavanje nukleinske kiseline virusa na instrumentu QIAcube	4
<b>Uključeni materijali</b>	<b>9</b>
Sadržaj kompleta	9
<b>Materijali koji su potrebni, ali nisu isporučeni</b>	<b>10</b>
<b>Upozorenja i mjere opreza</b>	<b>11</b>
<b>Pohrana i rukovanje reagensima</b>	<b>13</b>
<b>Pohrana i rukovanje ispircima</b>	<b>13</b>
<b>Postupak</b>	<b>14</b>
Važne točke prije započinjanja	14
Rukovanje kolonama QIAamp MinElute	14
Centrifugiranje	15
Obrada kolona QIAamp MinElute u mikrocentrifugi	15
Priprema reagensa i pufera	15
Protokol: Pročišćavanje nukleinskih kiselina virusa iz plazme ili seruma	19
<b>Kontrola kvalitete</b>	<b>22</b>
<b>Ograničenja</b>	<b>22</b>
<b>Radne značajke</b>	<b>22</b>
<b>Referencije</b>	<b>22</b>
<b>Simboli</b>	<b>23</b>
<b>Kontaktne podaci</b>	<b>24</b>
<b>Prilog</b>	<b>25</b>

## Namjena

QIAamp DSP Virus Spin Kit sustav je u kojem se koristi tehnologija membrane od silika-gela (tehnologija QIAamp) za izolaciju i pročišćavanje nukleinskih kiselina virusa iz bioloških ispitaka.

Ovaj proizvod namijenjen je da ga upotrebljavaju profesionalni korisnici, kao što su tehničari i liječnici osposobljeni za molekularno-biološke tehnike.

QIAamp DSP Virus Spin Kit namijenjen je za in vitro dijagnostičku uporabu.

## Sažetak i objašnjenje

U kompletu QIAamp DSP Virus Spin Kit koristi se dobro ispitana tehnologija istovremenog pročišćavanja DNK i RNK virusa. Komplet kombinira svojstva selektivnog vezanja membrane na bazi silika-gela sa fleksibilnim volumenima eluiranja između 20 i 150 µl. Ovaj postupak je prikladan za uporabu s plazmom i serumom. Uzorci mogu biti svježi ili zamrznuti, pod uvjetom da nisu zamrznuti i odmrznuti više od jednom (pogledajte stranicu 13). Nukleinske kiseline eluiraju se u puferu Buffer AVE, spremne su za uporabu u reakcijama amplifikacije ili se mogu pohraniti na temperaturi od -25 °C do -15 °C.

## Načela postupka

Postupak QIAamp DSP Virus Spin sastoji se od 4 koraka (liza, vezanje, ispiranje, eluiranje) i izvodi se primjenom kolona QIAamp MinElute® u standardnoj mikrocentrifugi ili potpuno automatizirano na instrumentu QIAcube®. Postupak je osmišljen kako bi se mogućnost križne kontaminacije između uzoraka svela na najmanju moguću mjeru i omogućilo sigurno rukovanje potencijalno infektivnim uzorcima. Jednostavni postupak QIAamp DSP Virus Spin prikladan je za istovremenu obradu više uzoraka. Komplet QIAamp DSP Virus Spin Kit može se koristiti za izolaciju RNK i DNK iz širokog niza RNK i DNK virusa. Međutim, radne značajke svake vrste virusa nisu utvrđene i korisnik ih mora potvrditi.

## Automatizirano pročišćavanje nukleinske kiseline virusa na instrumentu QIAcube

Pročišćavanje nukleinske kiseline virusa s pomoću kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit može biti potpuno automatizirano na instrumentu QIAcube. Inovativni instrument QIAcube koristi naprednu tehnologiju za obradu QIAGEN® spin kolona, što omogućuje laku integraciju automatizirane pripreme uzoraka s niskom brzinom protoka u vaš laboratorijski tijek rada. Za pripremu uzoraka s pomoću instrumenta QIAcube koriste se isti koraci kao i u ručnom postupku (tj. liza, vezanje, ispiranje i eluiranje), što vam omogućuje korištenje kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit za visokokvalitetno pročišćavanje nukleinskih kiselina virusa.

Ako komplet QIAamp DSP Virus Spin Kit upotrebljavate u automatiziranom postupku na instrumentu QIAcube, moguće je da će se na instrumentu obrađivati manje od 50 uzoraka zbog mrtvog volumena, isparavanja ili dodatne potrošnje reagensa uslijed automatiziranog pipetiranja. QIAGEN može zajamčiti 50 priprema uzoraka samo u slučaju primjene kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit u ručnom postupku.

Za više informacija o automatiziranom postupku pogledajte odgovarajući list protokola dostupan na web-adresi [www.qiagen.com/MyQIAcube](http://www.qiagen.com/MyQIAcube). Ažurirani listovi protokola mogu se besplatno preuzeti ili ih možete nabaviti tako da se obratite odjelu tehničke službe tvrtke QIAGEN (pogledajte stranicu 24).



Slika 1. QIAcube.

### **Liza s pomoću enzima QIAGEN Protease**

Liza uzoraka provodi se u vrlo denaturirajućim uvjetima pri povišenim temperaturama. Liza se provodi u prisutnosti enzima QIAGEN Protease i pufera Buffer AL koji u kombinaciji dovode do inaktivacije RNaza.

### **Adsorpcija u membranu QIAamp MinElute**

Uvjeti vezanja prilagođavaju se dodavanjem etanola kako bi se omogućilo optimalno vezanje RNK i DNK virusa na membranu. Lizati se zatim prenose u kolonu QIAamp MinElute i nukleinske kiseline virusa adsorbiraju se u membranu od silika-gela dok se lizat uvlači centrifugiranjem. Sol i pH uvjeti

osiguravaju da se proteini i drugi kontaminanti, prisutni u PCR-u i drugim daljnjim enzimskim reakcijama, ne zadržavaju na membrani QIAamp MinElute.

Epruvete za ispiranje od 2 ml (isporučene) koriste se u kombinaciji s kolonom QIAamp MinElute tijekom koraka postavljanja i ispiranja.

### **Uklanjanje preostalih kontaminanata**

Nukleinske kiseline ostaju vezane na membranu dok se kontaminanti učinkovito ispiru tijekom 3 koraka ispiranja. U jednom koraku vrlo pročišćena RNK i DNK virusa eluiraju se u puferu Buffer AVE čija je temperatura izjednačena sa sobnom temperaturom.

### **Eluiranje čistih nukleinskih kiselina**

Eluiranje se izvodi s pomoću pufera Buffer AVE. Kolone QIAamp MinElute namijenjene su za minimalne volumene za eluiranje od samo 20 µl. Zbog niskog volumena za eluiranje dobivaju se vrlo koncentrirani eluati nukleinskih kiselina.

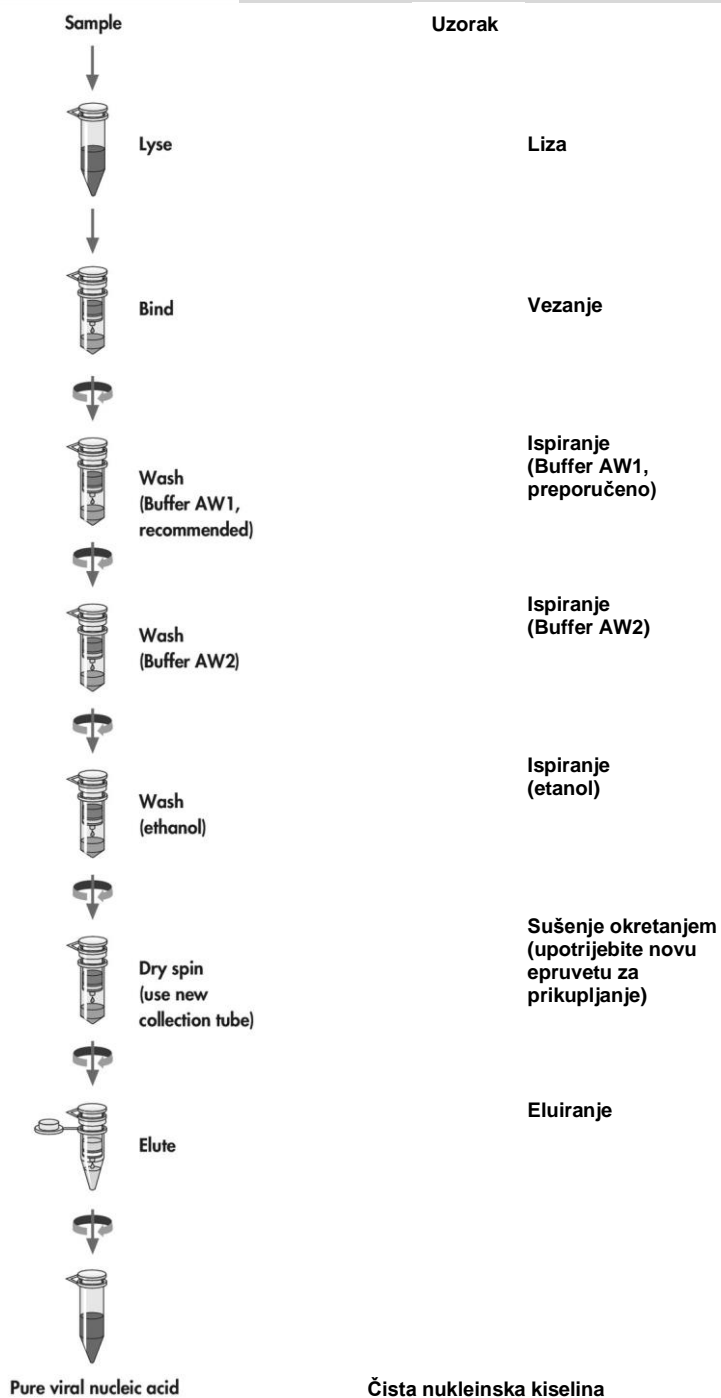
Za postupke daljnje obrade u kojima su potrebni mali početni volumeni (npr. neka PCR i RT-PCR ispitivanja) koncentriraniji eluat može povećati osjetljivost ispitivanja.

Za postupke daljnje obrade u kojima je potreban veći početni volumen moguće je povećati volumen za eluiranje do 150 µl. Međutim, povećanjem volumena za eluiranje smanjit će se koncentracija nukleinskih kiselina u eluatu.

Dobiveni volumen za eluiranje može biti do 5 µl manji od volumena pufera za eluiranje koji se dodaje u kolonu; na primjer, ako je volumen pufera za eluiranje 20 µl, volumen konačnog eluata bit će >15 µl. Volumen dobivenog eluata ovisi o naravi uzorka.

Eluirana nukleinska kiselina prikuplja se u epruvetama za eluiranje od 1,5 ml (Elution Tube, ET, isporučene). Preporučuje se pohrana DNK ili RNK na -20 °C.

Prinosi nukleinske kiseline virusa izolirane iz bioloških uzoraka obično su manji od 1 µg. Za određivanje prinosa preporučuju se metode kvantitativne amplifikacije. Prilikom kvantifikacije nukleinskih kiselina izoliranih protokolom QIAamp DSP Virus Spin imajte na umu da će u uzorku biti znatno više RNK nosača nego RNK virusa.



Potpuno automatizirano na instrumentu QIAcube

## **RNK nosač**

RNK nosač služi dvjema svrhama: Prvo, olakšava vezanje nukleinskih kiselina virusa na membranu QIAamp, osobito ako u uzorku ima vrlo malo ciljnih molekula. Drugo, dodavanje velike količine RNK nosača smanjuje mogućnost degradacije RNK virusa u rijetkom slučaju kad molekule RNaze izbjegnu denaturaciju djelovanjem kaotropnih soli i deterdženta u puferu Buffer AL. Ako se RNK nosač ne doda u pufer Buffer AL, to može dovesti do smanjenog prinosa RNK ili DNK virusa.

Različiti amplifikacijski sustav razlikuju se u učinkovitosti ovisno o ukupnoj količini nukleinske kiseline prisutne u reakciji. Eluati iz ovog kompleta sadržavaju i nukleinske kiseline virusa i RNK nosač, a količine RNK nosača uvelike će premašiti količine nukleinske kiseline virusa. Izračuni količine eluata koju treba dodati u daljnje amplifikacije stoga se trebaju temeljiti na količini dodanog RNK nosača. Kako biste postigli najviše razine osjetljivosti u reakcijama amplifikacije, možda će trebati prilagoditi količinu RNK nosača dodanog u pufer Buffer AL.

## **Dodavanje internih kontrola**


























Za korištenje protokola QIAamp DSP Virus Spin u kombinaciji s komercijalno dostupnim amplifikacijskim sustavima možda će trebati uvesti internu kontrolu u postupak pročišćavanja. Interne kontrole za RNK ili DNK treba zajedno s RNK nosačem dodati u pufer za lizu. Za optimalnu učinkovitost pročišćavanja molekule interne kontrole trebale bi biti dulje od 200 nukleotida s obzirom na to da za manje molekule neće dobiti dovoljan prinos.

Pogledajte upute proizvođača radi određivanja optimalne koncentracije. Ako se koristi druga koncentracija osim one preporučene, može se smanjiti učinkovitost amplifikacije.



# Uključeni materijali

## Sadržaj kompleta

QIAamp DSP Virus Spin Kit			
Kataloški br.		61704	
Broj preparata		50 <sup>§</sup>	
QIAamp MinElute	QIAamp MinElute Columns with Wash Tubes (kolona QIAamp MinElute s epruvetama za ispiranje) (WT) (2 ml)		50
LT	Lysis Tubes (Epruvete za lizu) (2 ml)	 	50
ET	Elution Tubes (Epruvete za eluiranje) (1,5 ml)	 	50
WT	Wash Tubes (Epruvete za ispiranje) (2 ml)	 	5 x 50
AL	Lysis Buffer (Pufer za lizu)*	 	33 ml
AW1	Wash Buffer 1 (Pufer za ispiranje 1)* (koncentrat)	   	19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (Pufer za ispiranje 2) <sup>†</sup> (koncentrat)	   	13 ml
AVE	Elution Buffer (Pufer za eluiranje) <sup>†</sup> (ljubičasti čepovi)	 	4 x 2 ml
PS	Protease Solvent (Otapalo proteaze) <sup>†</sup>	 	4,4 ml
Carrier	Carrier RNA (RNK nosača) (crveni čepovi)	 	310 µg
QP	QIAGEN Protease <sup>‡</sup>		1 bočica
	Priručnik		1

\* Sadržava kaotropne soli. Poduzmite odgovarajuće sigurnosne mjere i prilikom rukovanja nosite rukavice. Nije kompatibilan sa sredstvima za dezinfekciju koja sadržavaju izbjeljivač. Za dodatne informacije pogledajte stranicu 11.

<sup>†</sup> Sadržava natrijev azid kao konzervans.

<sup>‡</sup> Pogledajte „Priprema reagensa i pufera”, stranica 15.

<sup>§</sup> Ako komplet QIAamp DSP Virus Spin Kit upotrebljavate u automatiziranom postupku na instrumentu QIAcube, moguće je da će se na instrumentu obrađivati manje od 50 uzoraka zbog mrtvog volumena, isparavanja ili dodatne potrošnje reagensa uslijed automatiziranog pipetiranja. QIAGEN može zajamčiti 50 priprema uzoraka samo u slučaju primjene kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit u ručnom postupku.

## Materijali koji su potrebni, ali nisu isporučeni

Kad radite s kemikalijama, uvijek nosite odgovarajuću laboratorijsku kutu, rukavice za jednokratnu uporabu i zaštitne naočale. Više informacija potražite u odgovarajućim sigurnosno-tehničkim listovima (Safety Data Sheet, SDS) dostupnima kod dobavljača proizvoda.

- Etanol (96 – 100 %)\*
- Pipete<sup>†</sup> i vršci pipeta (radi sprječavanja križne kontaminacije preporučamo korištenje vršaka pipeta s pregradama za aerosole)
- Blok za zagrijavanje<sup>†</sup> za lizu uzoraka na temperaturi od 56 °C
- Mikrocentrifuga<sup>†</sup> (s rotorom za epruvete od 1,5 ml i 2 ml)
- Vorteks miješalica
- Za uzorke < 200 µl: 0,9 % -tna otopina NaCl

\* Nemojte upotrebljavati denaturirani alkohol koji sadrži druge tvari kao što su metanol ili metiletilketon.

† Kako biste osigurali odgovarajuću obradu uzoraka u postupcima s kompletom QIAamp DSP Virus Spin Kit, preporučamo kalibraciju instrumenata (npr. pipeta ili blokova za zagrijavanje) prema preporukama proizvođača.

## Upozorenja i mjere opreza

Za in vitro dijagnostičku uporabu

Kad radite s kemikalijama, uvijek nosite odgovarajuću laboratorijsku kutu, rukavice za jednokratnu uporabu i zaštitne naočale. Više informacija potražite u odgovarajućim sigurnosno-tehničkim listovima (Safety Data Sheet, SDS) dostupnima kod dobavljača proizvoda. Oni su dostupni na mreži u praktičnom i kompaktnom PDF formatu na web-adresi [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety). Ondje možete pronaći, pregledati i ispisati sigurnosno-tehnički list za svaki komplet QIAGEN i komponentu kompleta.



**OPREZ: NEMOJTE dodavati izbjeljivač ili kisele otopine izravno u otpad koji sadržava pufer Buffer AL ili Buffer AW1.**

Buffer AL i Buffer AW1 sadržavaju gvanidin hidroklorid koji u kombinaciji s izbjeljivačem može stvoriti visoko reaktivne spojeve. Ako se tekućina koja sadržava te puferne prolije, očistite je odgovarajućim laboratorijskim deterdžentom i vodom. Ako prolivena tekućina sadržava potencijalno infektivne agense, očistite zahvaćeno područje najprije laboratorijskim deterdžentom i vodom, a zatim 1-postotnim (v/v) natrijevim hipokloritom.

Ako su bočice pufera oštećene ili iz njih istječe tekućina, nosite rukavice i zaštitne naočale kada bacate bočice kako biste spriječili vlastite ozljede ili ozljede drugih osoba.

QIAGEN nije ispitao ima li u tekućem otpadu nastalom u postupcima QIAamp

DSP Virus Spin ostataka infektivnih materijala. Kontaminacija tekućeg otpada ostacima infektivnim materijala vrlo je malo vjerojatna, ali nije ju moguće u potpunosti isključiti. Stoga se tekući otpad mora smatrati infektivnim te njime treba postupati i treba ga odlagati u skladu s lokalnim sigurnosnim propisima.

Sljedeće izjave o opasnosti i mjerama opreza odnose se na komponente kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit:

### Buffer AL



Sadržava: gvanidin hidroklorid, maleinsku kiselinu. Upozorenje! Može biti štetno ako se proguta ili udiše. Nadražuje kožu. Uzrokuje jako nadraživanje oka. Može izazvati alergijsku reakciju na koži. Ako nadražaj oka ne prestaje: zatražiti savjet/pomoć liječnika. Odmah skinuti svu zagađenu odjeću i oprati prije ponovne uporabe. Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice.

### Buffer AW1



Sadržava: gvanidin hidroklorid. Upozorenje! Štetno ako se proguta ili udiše. Nadražuje kožu. Uzrokuje jako nadraživanje oka. U slučaju zdravstvenih tegoba nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA ili liječnika. Odložiti sadržaj/spremnik u odobreno postrojenje za odlaganje otpada. Odmah skinuti svu zagađenu odjeću i oprati prije ponovne uporabe. Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice.

### QIAGEN Protease



Sadržava: subtilizin. Opasnost! Uzrokuje blago nadraživanje kože. Uzrokuje teške ozljede oka. Ako se udiše može izazvati simptome alergije ili astme ili poteškoće s disanjem. Izbjegavati udisanje prašine/dima/plina/magle/pare/aerosola. Odložiti sadržaj/spremnik u odobreno postrojenje za odlaganje otpada. Pri otežanom disanju: nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA ili liječnika. U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispiranje. AKO SE UDIŠE: u slučaju otežanog disanja premjestiti unesrećenog na svjež zrak, umiriti ga i postaviti u položaj koji olakšava disanje. Odmah nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA ili liječnika. Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice. Nositi sredstva za zaštitu dišnog sustava.

## Pohrana i rukovanje reagensima

Kolone QIAamp MinElute po dolasku treba pohraniti temperaturu od 2 – 8 °C.

Svi puferi mogu se pohraniti na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C).

Liofilizirani RNK nosač može se pohraniti na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C) do datuma isteka roka trajanja navedenog na kutiji kompleta. RNK nosač može se otopiti samo u puferu Buffer AVE; otopljeni RNK nosač treba odmah dodati u pufer Buffer AL u skladu s postupkom opisanim na stranici 15. Otopinu treba pripremiti svježu i stabilna je na 2 – 8 °C do 48 sati. Neiskorištene dijelove RNK nosača otopljene u puferu Buffer AVE treba zamrznuti u alikvotima na temperaturi od -30 °C do -15 °C.

Liofilizirani enzim QIAGEN Protease (QP) može se čuvati na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C) sve do datuma isteka roka trajanja kompleta, a da to ne utječe na radne značajke.

Enzim QIAGEN Protease (QP) rekonstituiran u otapalu proteaze (Protease Solvent, PS) stabilan je do jedne godine kada se čuva na 2 – 8 °C, ali samo do datuma isteka roka trajanja kompleta. Treba izbjegavati čuvanje temeljne standardne otopine QIAGEN Protease na sobnoj temperaturi dulje vremensko razdoblje.

Rekonstituirani pufer Wash Buffer 1 (AW1) i rekonstituirani pufer Wash Buffer 2 (AW2) stabilni su do 1 godine kada se čuvaju na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C), ali samo do datuma isteka roka trajanja navedenog na kutiji kompleta.

## Pohrana i rukovanje ispitcima

Nakon uzimanja i centrifugiranja plazma ili serum mogu se pohraniti na 2 – 8 °C na maksimalno 6 sati. Za dugoročnu pohranu preporučuje se zamrzavanje u alikvotima na temperaturi od -20 °C ili -80 °C. Zamrznuti uzorci plazme ili seruma ne smiju se odmrzavati više od jedanput. Ponovljeno zamrzavanje i odmrzavanje dovodi do denaturacije i precipitacije proteina, što rezultira smanjenjem titra virusa te stoga i smanjenim prinosima nukleinskih kiselina virusa. Osim toga, krioprecipitati koji se formiraju tijekom postupka zamrzavanja i odmrzavanja začepit će membranu QIAamp MinElute. Ako su krioprecipitati vidljivi, talog se može razgraditi centrifugiranjem na približno 6800 x g u trajanju od 3 minute. Razbistreni supernatant treba odvojiti i odmah obraditi, a da se pritom ne poremeti talog.

# Postupak

## Važne točke prije započinjanja

- Po primitku kompleta provjerite komponente kompleta kako biste potvrdili da nema oštećenja. Ako su blister pakiranja ili bočice pufera oštećene, obratite se tehničkoj službi tvrtke QIAGEN ili lokalnom distributeru. U slučaju prolivene tekućine pogledajte „Upozorenja i mjere opreza” (stranica 11). Nemojte upotrebljavati oštećene komponente kompleta s obzirom na to da njihova uporaba može dovesti do loših radnih značajki kompleta.
- Uvijek upotrebljavajte opremu bez RNaze.
- Uvijek promijenite vrške pipeta između dva prijenosa tekućina. Kako biste križnu kontaminaciju sveli na najmanju moguću mjeru, preporučamo uporabu vršaka pipeta s pregradama za aerosole.
- Svi koraci centrifugiranja izvode se na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C).
- Uvijek upotrebljavajte rukavice za jednokratnu uporabu i redovito provjeravajte da nisu kontaminirani materijalom uzorka. Bacite rukavice ako se kontaminiraju.
- Kako biste sveli križnu kontaminaciju na najmanju moguću mjeru, otvarajte samo jednu po jednu epruvetu.
- Nemojte upotrebljavati komponente iz drugih kompleta u kombinaciji s kompletima koje trenutno upotrebljavate, osim ako su brojevi serije identični.
- Spriječite kontaminaciju reagensa u kompletu mikroorganizmima.
- Kako biste se zaštitili od potencijalno infektivnih materijala, preporučamo rad u uvjetima laminarnog protoka zraka sve dok se uzorci ne liziraju.
- Komplet smije upotrebljavati samo osoblje koje je obučeno u in vitro dijagnostičkim laboratorijskim postupcima.

## Rukovanje kolonama QIAamp MinElute

Zbog osjetljivosti tehnologija amplifikacije nukleinske kiseline, potrebno je poduzeti sljedeće mjere opreza prilikom rukovanja kolonama QIAamp MinElute kako biste spriječila križna kontaminacija između priprema uzoraka:

- Pažljivo dodajte uzorak ili otopinu u kolonu QIAamp MinElute. Pipetirajte uzorak u kolonu QIAamp MinElute, a da pritom ne navlažite rub kolone.
- Promijenite vrške pipeta između dva prijenosa tekućina. Preporučuje se uporaba vršaka pipeta s pregradama za aerosole.
- Izbjegnite dodirivanje membrane QIAamp MinElute vrškom pipete.

- Nakon svih koraka pulsiranja na vorteks miješalici, kratko centrifugirajte epruvete za mikrocentrifugu kako biste uklonili kapljice s unutarnje strane poklopca.
- Tijekom cijelog postupka nosite rukavice. U slučaju dodira između rukavica i uzorka, odmah promijenite rukavice.

## Centrifugiranje

- Epruvete za ispiranje i epruvete za eluiranje za sve korake centrifugiranja isporučuju se zajedno s kompletom.
- Centrifugiranje kolona QIAamp MinElute izvodi se na približno 6000 x *g* kako bi se smanjila buka centrifuge. Centrifugiranje kolona QIAamp MinElute na punoj brzini neće utjecati na prinos DNK ili RNK.
- Centrifugiranje treba izvoditi pri punoj brzini za sušenje okretanjem na kraju postupka ispiranja i za eluiranje.
- Svi koraci centrifugiranja trebaju se izvoditi na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C).

## Obrada kolona QIAamp MinElute u mikrocentrifugi

- Zatvorite kolonu QIAamp MinElute prije nego što je postavite na mikrocentrifugu. Centrifugirajte u skladu s uputama.
- Izvadite kolonu QIAamp MinElute i epruvetu za ispiranje iz mikrocentrifuge.
- Postavite kolonu QIAamp MinElute u novu epruvetu za ispiranje. Bacite filtrat i epruvetu za ispiranje. Imajte na umu da filtrat može sadržavati opasan otpad i treba ga odložiti na prikladan način.
- Istovremeno otvorite samo jednu kolonu QIAamp MinElute i pripazite da spriječite nastanak aerosola.

Za učinkovitu paralelnu obradu više uzoraka preporučamo punjenje nosača epruvetama za ispiranje tako da se kolone QIAamp MinElute mogu prenijeti nakon centrifugiranja. Iskorištene epruvete za ispiranje koje sadrže filtrat mogu se baciti, a nove epruvete za ispiranje koje sadrže kolone QIAamp MinElute mogu se izravno postaviti na mikrocentrifugu.

## Priprema reagensa i pufera

- Priprema RNK  
Prilikom pripreme RNK virusa, radite brzo tijekom ručnih koraka postupka i prije početka izvođenja postupka pročitajte Prilog na stranici 25.
- Priprema enzima QIAGEN Protease

Dodajte cijeli sadržaj bočice koji sadržava 4,4 ml otapala proteaze (Protease Solvent, PS) u bočicu liofiliziranog enzima QIAGEN Protease (QP) i pažljivo promiješajte. Kako biste izbjegli stvaranje pjene, promiješajte preokretanjem bočice nekoliko puta. Pobrinite se da se enzim QIAGEN Protease (QP) u potpunosti otopi.



Nemojte dodavati enzim QIAGEN Protease (QP) izravno u pufer Buffer AL.\*

Enzim QIAGEN Protease (QP) rekonstituiran u otapalu proteaze (Protease Solvent, PS) stabilan je godinu dana kada se čuva na 2 – 8 °C, ali samo do datuma isteka roka trajanja kompleta. Treba izbjegavati čuvanje temeljne standardne otopine QIAGEN Protease na sobnoj temperaturi dulje vremensko razdoblje.

#### ■ Dodavanje RNK nosača u pufer Buffer AL\*

Dodajte 310 µl pufera Buffer AVE u epruvetu koja sadržava 310 µg liofiliziranog RNK nosača kako biste dobili otopinu od 1 µg/µl. Dobro otopite RNK nosač, podijelite ga u alikvote prikladne veličine i pohranite na temperaturi od -25 °C do -15 °C. Nemojte zamrzavati i odmrzavati alikvote RNK nosača više od 3 puta.



RNK nosač ne otapa se u puferu Buffer AL. Prvo ga morate otopiti u puferu Buffer AVE, a zatim dodati u pufer Buffer AL.

Izračunajte potreban volumen mješavine pufera Buffer AL i RNK nosača po seriji uzoraka odabirom broja uzoraka koji će se istovremeno obrađivati iz Tablica 1, stranica 17. Za veći broj uzoraka volumeni se mogu izračunati jednadžbom za izračun uzoraka navedenom u nastavku:

$$n \times 0,22 \text{ ml} = y \text{ ml}$$

$$y \text{ ml} \times 28 \text{ µl/ml} = z \text{ µl}$$

pri čemu je: **n** = broj uzoraka koji će se istovremeno obrađivati

**y** = izračunati volumen pufera Buffer AL

**z** = volumen mješavine RNK nosača i pufera Buffer AVE koja će se dodati u Buffer AL

Lagano promiješajte preokretanjem epruvete 10 puta. Kako biste izbjegli stvaranje pjene, nemojte miješati na vorteks miješalici.

\* Sadržava kaotropne soli. Poduzmite odgovarajuće mjere za sigurnost u laboratoriju i prilikom rukovanja nosite rukavice. Nije kompatibilan sa sredstvima za dezinfekciju koja sadržavaju izbjeljivač. Informacije o sigurnosti potražite na stranici 11.



**Tablica 1. Volumeni (Vol.) pufera Buffer AL i mješavine RNK nosača i pufera Buffer AVE potrebi za određeni broj (Br.) uzoraka za postupak QIAamp DSP Virus Spin**

Br. uzoraka	Vol. pufera Buffer AL (ml)	Vol. RNK nosača AVE (µl)	Br. uzoraka	Vol. Pufera Buffer AL (ml)	Vol. RNK nosača AVE (µl)
1	0,22 ml	6,2 µl	13	2,86 ml	80,1 µl
2	0,44 ml	12,3 µl	14	3,08 ml	86,3 µl
3	0,66 ml	18,5 µl	14	3,30 ml	92,4 µl
4	0,88 ml	24,6 µl	16	3,52 ml	98,6 µl
5	1,10 ml	30,8 µl	17	3,74 ml	104,7 µl
6	1,32 ml	37,0 µl	18	3,96 ml	110,9 µl
7	1,54 ml	43,1 µl	19	4,18 ml	117,0 µl
8	1,76 ml	49,3 µl	20	4,40 ml	123,2 µl
9	1,98 ml	55,4 µl	21	4,62 ml	129,4 µl
10	2,20 ml	61,6 µl	22	4,84 ml	135,5 µl
11	2,42 ml	67,8 µl	23	5,06 ml	141,7 µl
12	2,64 ml	73,9 µl	24	5,28 ml	147,8 µl



Postupak pripreme uzorak optimiziran je za 5,6 µg RNK nosača po uzorku. Ako se pokaže da je manja količina RNK nosača bolja za vaš amplifikacijski sustav, prenesite samo potrebnu količinu otopljenog RNK nosača u epruvete koje sadržavaju pufer Buffer AL. Za svaki mikrogram RNK nosača potreban za pripremu dodajte 5 µl RNK nosača otopljenog u puferu Buffer AVE po mililitri pufera Buffer AL. Uporaba volumena manjeg od 5,6 µg RNK nosača po uzorku mora se potvrditi za svaku određenu vrstu uzorka i daljnji postupak ispitivanja.


### **Buffer AW1\***

Dodajte 25 ml etanola (96 – 100 %) u bočicu koja sadrži 19 ml koncentrata pufera Buffer AW1, prema uputama na bočici. Kvačicom označite kućicu na oznaci kako biste naznačili da je etanol dodan. Pohranite rekonstituirani pufer Buffer AW1 na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C). Rekonstituirani pufer Buffer AW1 stabilan je do jedne godine kada se čuva na sobnoj temperaturi, ali samo do datuma isteka roka trajanja kompleta.

 Uvijek protresite pufer Buffer AW1 kako biste ga promiješali prije početka postupka.

### **Buffer AW2†**

Dodajte 30 ml etanola (96 – 100 %) u bočicu koja sadrži 13 ml koncentrata pufera Buffer AW2, prema uputama na bočici. Kvačicom označite kućicu na oznaci kako biste naznačili da je etanol dodan. Pohranite rekonstituirani pufer Buffer AW2 na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C). Rekonstituirani pufer Buffer AW2 stabilan je do jedne godine kada se čuva na sobnoj temperaturi, ali samo do datuma isteka roka trajanja kompleta.

 Uvijek protresite pufer Buffer AW2 kako biste ga promiješali prije početka postupka.

### **Eluiranje nukleinskih kiselina**

Pufer za eluiranje treba izjednačiti sa sobnom temperaturom prije nego što se doda u kolonu.

\* Sadržava kaotropne soli. Poduzmite odgovarajuće mjere za sigurnost u laboratoriju i prilikom rukovanja nosite rukavice. Nije kompatibilan sa sredstvima za dezinfekciju koja sadržavaju izbjeljivač. Informacije o sigurnosti potražite na stranici 11.

† Sadržava natrijev azid kao konzervans.

## Protokol: Pročišćavanje nukleinskih kiselina virusa iz plazme ili seruma

Taj protokol služi za pročišćavanje nukleinskih kiselina virusa iz 200 µl plazme ili seruma primjenom kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit i mikrocentrifuge. Za automatsko pročišćavanje primjenom kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit na instrumentu QIAcube pogledajte *korisnički priručnik za QIAcube* i odgovarajući list protokola.

### **Važna točka prije započinjanja**


- Svi koraci centrifugiranja izvode se na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C).

### **Postupci koje treba napraviti prije započinjanja**

- Izjednačite uzorke sa sobnom temperaturom (15 – 25 °C).
- Izjednačite pufer Buffer AVE sa sobnom temperaturom za eluiranje u koraku 14.
- Postavite blok za zagrijavanje na 56 °C±3 °C za uporabu u koraku 4.
- Pobrinite se da su pufer Buffer AW1, pufer Buffer AW2 i enzim QIAGEN Protease (QP) pripremljeni prema uputama na stranicama 15–18.
- Dodajte RNK nosač rekonstituiran u puferu Buffer AVE u pufer Buffer AL prema uputama na stranici 15.

## Postupak

1. **Pipetirajte 25 µl enzima QIAGEN Protease (QP) u epruvetu za lizu (lysis tube, LT).**

 Pročitajte „Priprema reagensa i pufera”, stranica 15, za informacije o resuspendiranju enzima QIAGEN Protease (QP) u otapalu proteaze (Protease Solvent, PS).

2. **Dodajte 200 µl plazme ili seruma u epruvetu za lizu (Lysis Tube, LT).**

Ako je volumen uzorka manji od 200 µl, dodajte odgovarajući volumen 0,9 %-tne otopine natrijeva klorida kako biste dobili volumen proteaze i uzorka od ukupno 225 µl.

3. **Dodajte 200 µl pufera Buffer AL (sadrži 28 µg/ml RNK nosača). Začepite i promiješajte pulsiranjem na vorteks miješalici u trajanju od ≥ 15 sekundi.**

Kako biste osigurali učinkovitu lizu, neophodno je da se uzorak i pufer Buffer AL temeljito promiješaju za dobivanje homogene otopine.

 Nemojte dodavati enzim QIAGEN Protease (QP) izravno u pufer Buffer AL.

4. U bloku za zagrijavanje inkubirajte na temperaturi od  $56\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  u trajanju od 15 minuta  $\pm$  1 minutu.
5. Kratko centrifugirajte epruvetu za lizu (Lysis Tube, LT) kako biste uklonili kapljice iz unutarnje strane poklopca.
6. Dodajte 250  $\mu\text{l}$  etanola (96 – 100 %) u uzorak, zatvorite poklopac i dobro promiješajte pulsiranjem na vorteks miješalici u trajanju od  $\geq 15$  sekundi. Inkubirajte lizat s etanolom 5 minuta  $\pm$  30 sekundi na sobnoj temperaturi (15 – 25  $^{\circ}\text{C}$ ).



Ako je sobna temperatura veća od 25  $^{\circ}\text{C}$ , etanol treba ohladiti na ledu prije dodavanja u lizat.


7. Kratko centrifugirajte epruvetu kako biste uklonili kapljice iz unutarnje strane poklopca.
8. Pažljivo dodajte sav lizat iz koraka 7 u kolonu QIAamp MinElute, a da pritom ne navlažite rub. Začepite i centrifugirajte na približno 6000 x g u trajanju > 1 minute. Postavite kolonu QIAamp MinElute u čistu epruvetu za ispiranje (Wash Tube, WT) od 2 ml i bacite epruvetu za ispiranje koja sadržava filtrat.

Ako lizat nije u potpunosti prošao kroz kolonu nakon centrifugiranja, ponovno centrifugirajte na većoj brzini dok kolona QIAamp MinElute ne bude prazna.

9. Pažljivo otvorite kolonu QIAamp MinElute i dodajte 500  $\mu\text{l}$  pufera Buffer AW1, a da pritom ne navlažite rub. Začepite i centrifugirajte na približno 6000 x g u trajanju  $\geq$  1 minute. Postavite kolonu QIAamp MinElute u čistu epruvetu za ispiranje (Wash Tube, WT) od 2 ml i bacite epruvetu za ispiranje koja sadržava filtrat.
10. Pažljivo otvorite kolonu QIAamp MinElute i dodajte 500  $\mu\text{l}$  pufera Buffer AW2, a da pritom ne navlažite rub. Začepite i centrifugirajte na približno 6000 x g u trajanju > 1 minute. Postavite kolonu QIAamp MinElute u čistu epruvetu za ispiranje od 2 ml i bacite epruvetu za ispiranje koja sadržava filtrat.
11. Pažljivo otvorite kolonu QIAamp MinElute i dodajte 500  $\mu\text{l}$  etanola (96 – 100 %), a da pritom ne navlažite rub. Začepite i centrifugirajte na približno 6000 x g u trajanju > 1 minute. Bacite epruvetu za ispiranje koja sadržava filtrat.

Prijenos etanola u eluat može uzrokovati probleme u postupcima daljnje obrade. Neki rotori za centrifugiranje mogu vibrirati nakon usporavanja, zbog čega nevezana frakcija koja sadržava etanol dolazi u doticaj s kolonom QIAamp MinElute. Uklanjanje kolone QIAamp MinElute i epruvete za ispiranje iz rotora također može uzrokovati dolazak nevezane frakcije u kontakt s kolonom QIAamp MinElute.

12. Postavite kolonu QIAamp MinElute u čistu epruvetu za ispiranje (Wash Tube, WT) od 2 ml. Centrifugirajte pri punoj brzini (približno 20.000 x g) u trajanju od 3 minute ± 30 sekundi kako biste u potpunosti osušili membranu.
13. Postavite kolonu QIAamp MinElute u novu epruvetu za ispiranje (Wash Tube, WT) od 2 ml, otvorite poklopac i inkubirajte sklop na 56 °C ± 3 °C u trajanju od 3 minute ± 30 sekundi kako biste u potpunosti osušili membranu.  
Ti koraci služe kako bi sva preostala tekućina isparila.
14. Postavite kolonu QIAamp MinElute u epruvetu za eluiranje (Elution Tube, ET) i bacite epruvetu za ispiranje s filtratom. Pažljivo otvorite poklopac kolone QIAamp MinElute i dodajte 20 – 150 µl pufera Buffer AVE u središte membrane. Zatvorite poklopac i inkubirajte na sobnoj temperaturi u trajanju od 5 minuta. Centrifugirajte pri punoj brzini (približno 20.000 x g) u trajanju od > 1 minute.

 Provjerite je li pufer za eluiranje izjednačen sa sobnom temperaturom. Ako se eluiraju mali volumeni (< 50 µl), pufer za eluiranje mora se dispenzirati u središte membrane za potpuno eluiranje vezane RNK i DNK.

Volumen za eluiranje je fleksibilan i može se prilagoditi prema zahtjevima postupaka daljnje obrade. Imajte na umu da će volumen dobivenog eluata biti približno 5 µl manji od volumena pufera za eluiranje dodanog u kolonu.

## Kontrola kvalitete

U skladu sa sustavom za upravljanje kvalitetom društva QIAGEN certificiranim u skladu s normom ISO, svaka serija kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit ispituje se prema unaprijed određenim specifikacijama kako bi se osigurala dosljedna kvaliteta proizvoda.

## Ograničenja

Radne značajke sustava utvrđene su primjenom uzoraka plazme i seruma za izolaciju nukleinskih kiselina virusa.

Odgovornost je korisnika potvrditi radne značajke sustava za sve postupke koji se izvode u laboratoriju, a koje ne pokrivaju ispitivanja radnih značajki koje je provela tvrtka QIAGEN.

Kako bi se rizik od negativnog utjecaja na dijagnostičke rezultate sveo na najmanju moguću mjeru, u postupcima daljnje obrade trebaju se upotrijebiti prikladne kontrole. Za dodatnu validaciju preporučuju se smjernice International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) navedene u dokumentu *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology*.

Svi generirani dijagnostički rezultati moraju se tumačiti zajedno s drugim kliničkim ili laboratorijskim nalazima.

## Radne značajke

Radne značajke kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit potražite na web-adresi [www.qiagen.com/goto/QIAampDSPVirusSpinPerformance](http://www.qiagen.com/goto/QIAampDSPVirusSpinPerformance).

## Referencije

Tvrtka QIAGEN održava veliku, ažuriranu internetsku bazu podataka znanstvenih publikacija u kojima se koriste proizvodi tvrtke QIAGEN. Sveobuhvatne opcije pretraživanja omogućuju vam da pronađete članke koji su vam potrebni jednostavnim pretraživanjem ključnih riječi ili navođenjem određene primjene, područja istraživanja, naslova itd.

Za potpuni popis referencija posjetite referentnu bazu podataka tvrtke QIAGEN putem interneta na web-adresi [www.qiagen.com/RefDB/search.asp](http://www.qiagen.com/RefDB/search.asp) ili se obratite tehničkoj službi tvrtke QIAGEN ili svojem lokalnom distributeru.

## Simboli



Sadržava reagensa dovoljno za <N> priprema uzoraka



Prije uporabe pročitajte upute



Upotrijebiti do



In vitro dijagnostički medicinski proizvod



Kataloški broj



Važna napomena



Broj serije



Broj materijala



Komponente



Volumen



Ograničenja temperature



Proizvođač



Pri dolasku



Otvorite nakon isporuke; čuvajte kolone QIAamp MinElute na 2 – 8 °C



Zabilježiti trenutni datum nakon dodavanja etanola u bočicu



Dodavanje



Sadržava

<b>LYOPH</b>	Liofilizirano
<b>RCNS</b>	Rekonstituirajte u
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>GuHCl</b>	Gvanidin hidroklorid
<b>MALEIC ACID</b>	Maleinska kiselina
<b>SUBT</b>	Subtilizin
<b>GTIN</b>	Globalni broj trgovačke jedinice
→	Vodi do

## Kontaktни podaci

Mi u tvrtki QIAGEN ponosni smo na kvalitetu i dostupnost naše tehničke podrške. U našim odjelima tehničke službe radeiskusni znanstvenici s bogatim praktičnim i teorijskim znanjem iz tehnologije uzorkovanja i ispitivanja te uporabe proizvoda tvrtke QIAGEN. Ako imate bilo kakvih pitanja ili iskusite bilo kakve poteškoće u vezi s kompletom QIAamp DSP Virus Spin Kit ili proizvodima tvrtke QIAGEN općenito, slobodno nam se obratite.

Klijenti tvrtke QIAGEN glavni su izvor informacija o naprednoj ili specijaliziranoj uporabi naših proizvoda. Te informacije pomažu drugim znanstvenicima kao i istraživačima tvrtke QIAGEN. Stoga vas potičemo da nam se obratite ako imate bilo kakvih prijedloga u vezi s radnim značajkama proizvoda ili novim primjenama i tehnikama.

Za tehničku pomoć i više informacija posjetite naš Centar za tehničku pomoć na [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) ili se obratite jednom od tehničkih odjela tvrtke QIAGEN ili lokalnim distributerima (pogledajte poledinu ili posjetite stranicu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden, Njemačka



# Prilog

## Rukovanje s RNK

Ribonukleaze (RNaze) su vrlo stabilni i aktivni enzimi koji uglavnom ne trebaju kofaktore za funkcioniranje. Budući da se RNaze teško inaktiviraju, a za uništenje RNK su dovoljne su i minute, ne upotrebljavajte plastični ili stakleni pribor, a da pritom niste eliminirali moguću kontaminaciju RNazama. Treba obratiti pažnju na izbjegavanje nenamjernog uvođenja RNaza u uzorak RNK tijekom ili nakon postupka izolacije. Kako bi se stvorila i održala okolina bez RNaza, moraju se poduzeti sljedeće mjere opreza tijekom predobrade te uporabe jednokratnih i višekratnih posuda i otopina tijekom rada s RNK.

## Općenito rukovanje

Prilikom rada s RNK potrebno je uvijek upotrebljavati propisnu mikrobiološku i aseptičku tehniku. Ruke i čestice prašine mogu prenijeti bakterije i plijesni te su najčešći izvori kontaminacije RNazom. Uvijek nosite rukavice od lateksa ili vinila prilikom rukovanja reagensima i uzorcima RNK kako biste spriječili kontaminaciju RNazom s površine kože ili s prašnjave laboratorijske opreme. Često mijenjajte rukavice i držite epruvete zatvorenima.

## Plastični pribor za višekratnu uporabu

Plastični pribor za višekratnu uporabu treba obraditi prije uporabe kako bi se osiguralo da ne sadrži RNaze. Plastični pribor treba dobro isprati s 0,1 M NaOH,\* 1 mM EDTA\* i nakon toga s vodom koja ne sadržava RNaze\* (pogledajte „Otopine”, stranica 26). Plastični pribor otporan na kloroform također možete isprati kloroformom\* za inaktivaciju RNaza.

## Stakleni pribor

Stakleni pribor treba obraditi prije uporabe kako bi se osiguralo da ne sadržava RNaze. Stakleni pribor koji se koristi za postupke s RNK prije uporabe treba očistiti deterdžentom, dobro isprati i obraditi u pećnici na > 240 °C u trajanju od četiri ili više sati (odnosno preko noći ako je tako prikladnije). Samo autoklaviranje neće u potpunosti inaktivirati mnoge RNaze. Obrada u pećnici inaktivirat će ribonukleaze, a njome će se i sve druge nukleinske kiseline (kao što je DNK plazmida) ukloniti s površine pribora. Stakleni pribor također se može obraditi DEPC-om\* (dietil pirokarbonatom). Prekrijte stakleni pribor 0,1 %-tnim DEPC-om u vodi preko noći (12 sati) na 37 °C, a zatim autoklavirajte ili zagrijte na 100 °C u trajanju od 15 minuta kako biste uklonili ostatke DEPC-a.

\* Kad radite s kemikalijama, uvijek nosite odgovarajuću laboratorijsku kutu, rukavice za jednokratnu uporabu i zaštitne naočale. Više informacija potražite u odgovarajućim sigurnosno-tehničkim listovima (Safety Data Sheet, SDS) dostupnima kod dobavljača proizvoda.

**i** S epruveta Corex® RNaze treba ukloniti DEPC-om, a ne obradom u pećnici. Time će se smanjiti stopa neuspješnosti za tu vrstu epruvete tijekom centrifugiranja.

## Spremnici za elektroforezu

Spremnike za elektroforezu treba očistiti otopinom deterdženta (npr. 0,5 %-tnim natrijevim dodecilsulfatom (Sodium Dodecyl Sulfate, SDS)),\* isprati vodom, osušiti etanolom\*† i zatim napuniti 3 %-tnom otopinom vodikovog peroksida.\* Nakon 10 minuta na sobnoj temperaturi spremnike za elektroforezu treba dobro isprati vodom koja ne sadržava RNazu.

## Otopine

Otopine (vodu i druge otopine) treba tretirati 0,1 %-tnim DEPC-om. DEPC će reagirati s primarnim aminima i ne može se upotrebljavati za izravno tretiranje Tris pufera. DEPC je vrlo nestabilan u prisutnosti Tris pufera i brzo se razgrađuje u etanol i CO<sub>2</sub>. Prilikom pripreme Tris pufera najprije tretirajte vodu DEPC-om, a zatim otopite Tris kako biste pripremili odgovarajući pufer.

DEPC je snažan, ali ne i apsolutni inhibitor RNaza. Obično se upotrebljava u koncentraciji od 0,1 % za inaktivaciju RNaza na staklenom ili plastičnom priboru ili za dobivanje otopina i vode bez RNaza. DEPC inaktivira RNaze kovalentnom modifikacijom. DEPC u tragovima će karboksimetilacijom pretvoriti ostatke purina u RNK. Karboksimetilirana RNK translatira se s vrlo niskom učinkovitosti u sustavima bez stanica. Međutim, to na njenu mogućnost stvaranja hibrida DNK:RNK ili RNK:RNK ne utječe ozbiljno, osim ako je modificirana velika frakcija preostalog purina. Preostali DEPC mora se uvijek ukloniti iz otopina ili posuda steriliziranjem u autoklavu ili zagrijavanjem 15 minuta ± 1 minutu na temperaturi od 100 °C ± 3 °C.

Dodajte 0,1 ml DEPC-a u 100 ml otopine koju treba tretirati i snažno protresite kako bi se DEPC pomiješao s otopinom ili ostavite otopinu da se inkubira > 12 sati na temperaturi od 37 °C ± 3 °C. Autoklavirajte 15 minuta ± 1 minutu kako biste uklonili sve tragove DEPC-a. Moglo bi biti korisno ispitati izvore vode kako bi se utvrdila prisutnost kontaminacije RNazama jer u mnogim izvorima destilirane vode nema aktivnosti RNaze.

**i** Iz pufera u kompletu QIAamp DSP Virus Spin Kit RNaze se ne uklanjaju tretiranjem DEPC-om te stoga ne sadrže nikakvu kontaminaciju DEPC-om.

\* Kad radite s kemikalijama, uvijek nosite odgovarajuću laboratorijsku kutu, rukavice za jednokratnu uporabu i zaštitne naočale. Više informacija potražite u odgovarajućim sigurnosno-tehničkim listovima (Safety Data Sheet, SDS) dostupnima kod dobavljača proizvoda.

† Plastika koja se koristi u nekim spremnicima za elektroforezu nije otporna na etanol. Budite oprezni i provjerite upute dobavljača.

Zaštitni znakovi: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, MinElute® (QIAGEN Group); Corex® (Corning, Inc.).

Registrirani nazivi, zaštitni znakovi itd. korišteni u ovom dokumentu, čak i ako nisu specifično označeni kao takvi, ne smiju se smatrati zakonski nezaštićenim.

#### **Ugovor o ograničenoj licenciji za QIAamp DSP Virus Spin Kit**

Uporabom ovog proizvoda svaki kupac ili korisnik kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit pristaje na sljedeće uvjete:

1. Komplet QIAamp DSP Virus Spin Kit smije se upotrebljavati isključivo u skladu s *Priručnikom za QIAamp DSP Virus Spin Kit* i upotrebljavati samo s komponentama uključenima u komplet. QIAGEN ne daje nikakvu licenciju za svoje intelektualno vlasništvo za uporabu ili ugrađivanje komponenata ovog kompleta s bilo kojom komponentom koja nije sadržana u ovom kompletu, osim kako je opisano u *Priručniku za QIAamp DSP Virus Spin Kit* i drugim protokolima dostupnima na [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).
2. Osim izričito navedenih licencija, QIAGEN ne jamči da ovaj komplet i/ili njegova upotreba ne krši prava trećih strana.
3. Ovaj komplet i njegove komponente licencirani su samo za jednokratnu uporabu i ne smiju se ponovno upotrebljavati, prerađivati niti preprodavati.
4. QIAGEN se odriče svih drugih licencija, izričitih ili impliciranih, osim onih koje su izričito navedene.
5. Kupac i korisnik ovog kompleta potvrđuju da neće dopustiti drugim osobama poduzimanje koraka koji bi mogli dovesti do kršenja gore navedenih odredbi ili omogućiti njihovo kršenje. QIAGEN može provesti zabrane navedene u ovom Ugovoru o ograničenoj licenciji na bilo kojem sudu te će potraživati sve sudske troškove i troškove postupka istraživanja, uključujući troškove odvjetnika, za svaku radnju s ciljem provedbe ovog Ugovora o ograničenoj licenciji ili bilo kojeg svojeg prava intelektualnog vlasništva povezanog s kompletom i/ili njegovim komponentama.

Ažurirane uvjete licencije potražite na [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2015 QIAGEN, sva prava pridržana.

---

**www.qiagen.com**

**Australia** ■ techservice-au@qiagen.com

**Austria** ■ techservice-at@qiagen.com

**Belgium** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Brazil** ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

**China** ■ techservice-cn@qiagen.com

**Denmark** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Finland** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**France** ■ techservice-fr@qiagen.com

**Germany** ■ techservice-de@qiagen.com

**Hong Kong** ■ techservice-hk@qiagen.com

**India** ■ techservice-india@qiagen.com

**Ireland** ■ techservice-uk@qiagen.com

**Italy** ■ techservice-it@qiagen.com

**Japan** ■ techservice-jp@qiagen.com

**Korea (South)** ■ techservice-kr@qiagen.com

**Luxembourg** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Mexico** ■ techservice-mx@qiagen.com

**The Netherlands** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Norway** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Singapore** ■ techservice-sg@qiagen.com

**Sweden** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Switzerland** ■ techservice-ch@qiagen.com

**UK** ■ techservice-uk@qiagen.com

