

QIAamp[®] DSP Virus Spin Kit — Instrukcja obsługi



50

Wersja 1

Do diagnostyki in vitro



REF 61704



1062686PL



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, NIEMCY

R6 **MAT** 1062686PL



QIAGEN Sample and Assay Technologies

Firma QIAGEN jest czołowym dostawcą innowacyjnych technologii postępowania z próbkami i wykonywania oznaczeń, które umożliwiają izolację i detekcję zawartości dowolnej próbki biologicznej. Nasze zaawansowane produkty i usługi o wysokiej jakości zapewniają sukces na każdym etapie — od pobrania próbki do otrzymania wyniku.

Firma QIAGEN wyznacza standardy w:

- procedurach oczyszczania DNA, RNA i białek;
- oznaczeniach kwasów nukleinowych i białek;
- badaniach microRNA oraz RNAi;
- automatyzacji technologii postępowania z próbkami i wykonywania oznaczeń.

Naszą misją jest umożliwienie klientom osiągnięcia wybitnych sukcesów i przełomowych wyników badań. Więcej informacji można znaleźć na stronie www.qiagen.com.

Spis treści

Przeznaczenie	4
Podsumowanie i objaśnienie	4
Zasady procedury	4
Zautomatyzowane oczyszczanie wirusowego kwasu nukleinowego w analizatorze QIAcube	4
Materiały dostarczone w zestawie	9
Zawartość zestawu	9
Materiały wymagane, ale niedostarczone	10
Ostrzeżenia i środki ostrożności	11
Przechowywanie i sposób postępowania z odczynnikami	13
Przechowywanie i sposób postępowania z próbkami	13
Procedura	14
Ważne informacje przed rozpoczęciem	14
Sposób postępowania z kolumnami QIAamp MinElute	14
Odwirowanie	15
Przetwarzanie kolumn QIAamp MinElute w mikrowirówce	15
Przygotowanie odczynników i buforów	16
Protokół: Oczyszczanie wirusowych kwasów nukleinowych z osocza lub surowicy	19
Kontrola jakości	22
Ograniczenia	22
Parametry skuteczności	22
Literatura	22
Symbole	23
Informacje kontaktowe	24
Załącznik	25

Przeznaczenie

QIAamp DSP Virus Spin Kit to system, który wykorzystuje technologię membrany krzemionkowej (technologia QIAamp) do izolacji i oczyszczania wirusowych kwasów nukleinowych z próbek biologicznych.

Produkt jest przeznaczony do stosowania przez profesjonalnych użytkowników, takich jak technicy i lekarze przeszkoleni w zakresie technik biologii molekularnej.

Zestaw QIAamp DSP Virus Spin Kit jest przeznaczony do diagnostyki in vitro.

Podsumowanie i objaśnienie

Zestaw QIAamp DSP Virus Spin Kit wykorzystuje powszechnie znaną technologię do jednoczesnego oczyszczania wirusowego DNA i RNA. Zestaw łączy właściwości selektywnego wiązania membrany krzemionkowej z elastycznymi objętościami elucji wynoszącymi od 20 do 150 µl. Procedura ta nadaje się do stosowania z osoczem i surowicą. Próbkki mogą być świeże lub zamrożone, pod warunkiem, że nie były zamrażane i rozmrażane więcej niż raz (patrz strona 13). Wirusowe kwasy nukleinowe są eluowane buforem Buffer AVE, gotowe do użycia w reakcjach amplifikacji lub do przechowywania w temperaturze od –25°C do –15°C.

Zasady procedury

Procedura QIAamp DSP Virus Spin obejmuje 4 etapy (liza, wiązanie, płukanie, elucja) i jest przeprowadzana przy użyciu kolumn QIAamp MinElute® w standardowej mikrowirówce lub w całkowicie zautomatyzowany sposób w analizatorze QIAcube®. Procedura jest zaprojektowana w taki sposób, aby zminimalizować możliwość zanieczyszczenia krzyżowego między próbkami i umożliwić bezpieczne postępowanie z potencjalnie zakaźnymi próbkami. Prosta procedura QIAamp DSP Virus Spin jest odpowiednia do przetwarzania wielu próbek jednocześnie. Zestaw QIAamp DSP Virus Spin Kit może być używany do izolacji wirusowego RNA i DNA szerokiej gamy wirusów RNA i DNA. Nie określono jednak parametrów skuteczności dla każdego gatunku wirusa i musi ona zostać zwalidowana przez użytkownika.

Zautomatyzowane oczyszczanie wirusowego kwasu nukleinowego w analizatorze QIAcube

Oczyszczanie wirusowych kwasów nukleinowych przy użyciu zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit można wykonywać w całkowicie zautomatyzowany sposób w analizatorze QIAcube. Innowacyjny analizator QIAcube wykorzystuje zaawansowaną technologię do przetwarzania kolumn wirówkowych QIAGEN®, umożliwiając płynną integrację niskoprzepustowego, zautomatyzowanego przygotowywania próbek z pracą laboratoryjną.

Przygotowanie próbek za pomocą analizatora QIAcube obejmuje te same etapy co procedura ręczna (tzn. lizę, wiązanie, płukanie i elucję), co umożliwia użytkownikowi otrzymanie kwasów nukleinowych o wysokiej jakości podczas oczyszczania przy użyciu zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit.

W przypadku stosowania zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit w sposób zautomatyzowany w aparacie QIAcube aparat może przetwarzać mniej niż 50 próbek z powodu objętości martwych, parowania i dodatkowego zużycia odczynników poprzez zautomatyzowane pipetowanie. Firma QIAGEN gwarantuje 50 przygotowań próbek tylko w przypadku ręcznego stosowania zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit.

Więcej informacji na temat procedury zautomatyzowanej można znaleźć w odpowiedniej karcie protokołu dostępnej pod adresem www.qiagen.com/MyQIAcube. Najnowsze karty protokołów można pobrać bezpłatnie lub otrzymać kontaktując się z działem serwisu technicznego firmy QIAGEN (patrz strona 24).



Ryc. 1. Analizator QIAcube.

Liza w obecności proteazy QIAGEN Protease

Próbki poddawane są lizie w warunkach wysoce denaturujących przy podwyższonych temperaturach. Liza zachodzi w obecności proteazy QIAGEN Protease i buforu Buffer AL, które wspólnie zapewniają inaktywację RNaz.

Adsorpcja do membrany kolumny QIAamp MinElute

Warunki wiązania dostosowuje się poprzez dodanie etanolu w celu umożliwienia optymalnego wiązania wirusowego RNA i DNA do membrany. Lizaty nanosi się następnie na kolumnę QIAamp MinElute, a wirusowe kwasy nukleinowe ulegają adsorpcji na membranie z żelu krzemionkowego w miarę przesączania lizatu pod wpływem odwirowywania. Sól i środowisko pH zapewniają, że białko i inne zanieczyszczenia, które mogą powodować inhibicję reakcji PCR i innych dalszych reakcji enzymatycznych, nie są zatrzymywane na membranie kolumny QIAamp MinElute.

Probówki do płukania o pojemności 2 ml (dostarczone w zestawie) wspomagają kolumnę QIAamp MinElute podczas etapów ładowania i płukania.

Usuwanie pozostałości zanieczyszczeń

Kwasy nukleinowe pozostają związane z membraną, podczas gdy zanieczyszczenia są efektywnie wypłukiwane podczas 3 etapów płukania. Podczas jednego etapu wysoce czyste wirusowe RNA i DNA są eluowane w buforze Buffer AVE, zrównoważonym do temperatury pokojowej.

Elucja czystych kwasów nukleinowych

Elucja jest wykonywana za pomocą buforu Buffer AVE. Kolumny QIAamp MinElute umożliwiają uzyskanie minimalnych objętości elucji wynoszących jedynie 20 µl. Niska objętość elucji prowadzi do otrzymania wysoce stężonych eluatów kwasu nukleinowego.

W przypadku dalszych zastosowań, które wymagają małych objętości początkowych (np. niektóre testy PCR i RT-PCR), bardziej stężony eluat może zwiększać czułość testu.

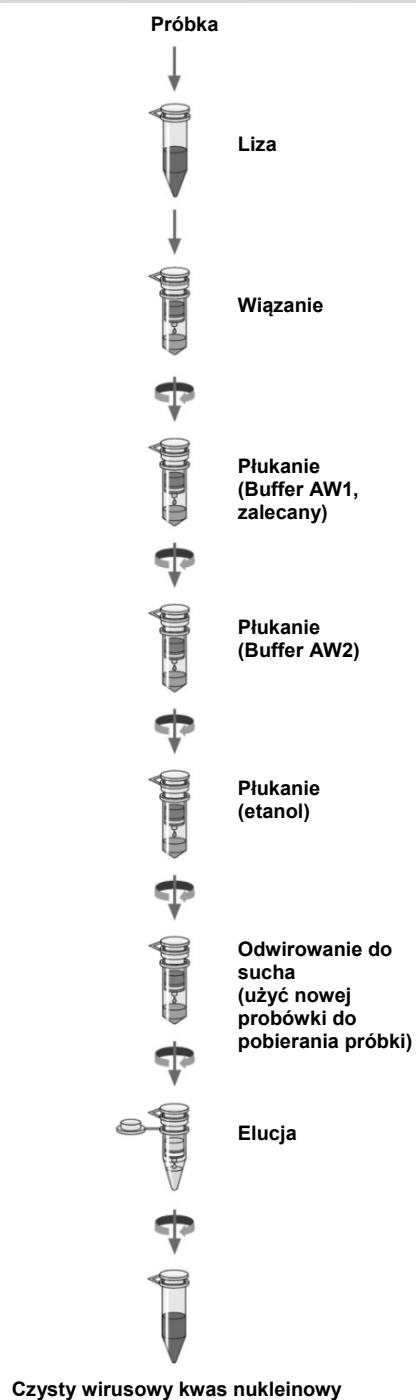
Do dalszych zastosowań wymagających większych objętości początkowych można zwiększyć objętość elucji do 150 µl. Jednak zwiększenie objętości elucji zmniejszy stężenie kwasów nukleinowych w eluacie.

Odzyskana objętość eluatu może być do 5 µl mniejsza niż objętość buforu do elucji naniesiona na kolumnę, na przykład objętość buforu do elucji wynosząca 20 µl prowadzi do uzyskania >15 µl końcowego eluatu. Objętość odzyskanego eluatu zależy od właściwości próbki.

Kwasy nukleinowe po elucji zbiera się w 1,5 ml probówkach do elucji (elution tube, ET, dostarczone w zestawie). Zalecane jest przechowywanie DNA lub RNA w temperaturze –20°C.

Uzyski wirusowego kwasu nukleinowego wyizolowanego z próbek biologicznych zwykle są niższe niż 1 µg. W celu określenia uzysków zalecane jest użycie ilościowych metod amplifikacji. Podczas ilościowego oznaczenia kwasów nukleinowych wyizolowanych za pomocą protokołu QIAamp DSP Virus Spin należy pamiętać, że próbka będzie zawierać znacznie większą ilość produktu Carrier RNA niż wirusowego RNA.

Procedura QIAamp DSP Virus Spin



Calkowicie zautomatyzowana procedura w analizatorze QIAcube

Carrier RNA

Produkt Carrier RNA służy dwóm celom: Po pierwsze wzmacnia wiązanie wirusowych kwasów nukleinowych do membrany kolumny QIAamp, zwłaszcza jeśli w próbce jest bardzo mało cząsteczek docelowych. Po drugie dodanie dużych ilości produktu Carrier RNA zmniejsza prawdopodobieństwo rozkładu wirusowego RNA w rzadkich przypadkach, gdy cząsteczki RNaz nie ulegną denaturacji pod wpływem soli chaotropowych i detergentu zawartego w buforze Buffer AL. Jeśli do buforu Buffer AL nie jest dodany produkt Carrier RNA, może to prowadzić do zmniejszonego odzysku wirusowego RNA lub DNA.

Różne systemy amplifikacji różnią się pod kątem skuteczności w zależności od całkowitej ilości kwasu nukleinowego obecnego w reakcji. Eluaty z tego zestawu zawierają wirusowe kwasy nukleinowe i produkt Carrier RNA, a ilość produktu Carrier RNA znacznie przekracza ilość wirusowych kwasów nukleinowych. Obliczenia, ile eluatu dodać do dalszych amplifikacji, należy z tego powodu opierać na ilości dodanego produktu Carrier RNA. W celu osiągnięcia najwyższych poziomów czułości w reakcjach amplifikacji może być konieczne dostosowanie ilości produktu Carrier RNA dodanego do buforu Buffer AL.













Dodanie kontroli wewnętrznych

Stosowanie protokołu QIAamp DSP Virus Spin w połączeniu z dostępnymi w handlu systemami amplifikacji może wymagać wprowadzenia kontroli wewnętrznej do procedury oczyszczania. Kontrolę wewnętrzną RNA lub DNA należy dodać razem z produktem Carrier RNA do buforu Lysis Buffer. W celu uzyskania optymalnej skuteczności oczyszczania cząsteczki kontroli wewnętrznej powinny być dłuższe niż 200 nukleotydów, ponieważ mniejsze cząsteczki nie są skutecznie odzyskiwane.

W celu ustalenia optymalnego stężenia należy zapoznać się z instrukcjami producenta. Zastosowanie stężenia innego niż zalecane może zmniejszyć skuteczność amplifikacji.

Materiały dostarczone w zestawie

Zawartość zestawu

QIAamp DSP Virus Spin Kit			
Nr katalogowy			61704
Liczba przygotowań			50 [§]
QIAamp MinElute	QIAamp MinElute Columns z probówkami Wash Tube (WT) (2 ml)		50
LT	Lysis Tubes (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (2 ml)		5 x 50
AL	Lysis Buffer*		33 ml
AW1	Wash Buffer 1* (koncentrat)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2† (koncentrat)		13 ml
AVE	Elution Buffer† (fioletowe zatyczki)		4 x 2 ml
PS	Protease Solvent†		4,4 ml
Carrier	Carrier RNA (czerwone zatyczki)		310 µg
QP	QIAGEN Protease‡		1 fiolka
Instrukcja obsługi			1

* Zawiera sól chaotropową. Podjąć odpowiednie środki ostrożności i nosić rękawiczki podczas pracy. Produkt nie jest zgodny ze środkami dezynfekującymi zawierającymi wybielacz. Więcej informacji można znaleźć na stronie 11.

† Zawiera azydek sodu jako środek konserwujący.

‡ Patrz „Przygotowanie odczynników i buforów”, strona 16.

§ W przypadku stosowania zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit w sposób zautomatyzowany w aparacie QIAcube aparat może przetwarzać mniej niż 50 próbek z powodu objętości martwych, parowania i dodatkowego zużycia odczynników poprzez zautomatyzowane pipetowanie. Firma QIAGEN gwarantuje 50 przygotowań próbek tylko w przypadku ręcznego stosowania zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit.

Materiały wymagane, ale niedostarczone

Podczas pracy ze środkami chemicznymi należy zawsze używać odpowiedniego fartucha laboratoryjnego, rękawiczek jednorazowych i okularów ochronnych. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z kartami charakterystyki (safety data sheet, SDS) uzyskanymi od producentów poszczególnych produktów.

- Etanol (96–100%)*
- Pipety[†] i końcówki do pipet (aby nie dopuścić do zanieczyszczenia krzyżowego zdecydowanie zalecamy używanie końcówek do pipet z barierami aerozolowymi)
- Blok grzewczy[†] do lizy próbek w temperaturze 56°C
- Mikrowirówka[†] (z rotorem dla probówek o pojemności 1,5 ml i 2 ml)
- Wytrząsarka
- Dla próbek o objętości <200 µl: 0,9-procentowy roztwór NaCl

* Nie używać alkoholu denaturowanego, który zawiera inne substancje, takie jak metanol lub keton metylowo-etylowy.

[†] W celu zapewnienia właściwego przetwarzania próbek w procedurach zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit zdecydowanie zalecamy kalibrowanie sprzętu (np. pipet i bloków grzewczych) zgodnie z zaleceniami producenta.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

Do diagnostyki in vitro

Podczas pracy ze środkami chemicznymi należy zawsze używać odpowiedniego fartucha laboratoryjnego, rękawiczek jednorazowych i okularów ochronnych. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z odpowiednimi kartami charakterystyki (SDS). Są one dostępne online w wygodnym i kompaktowym formacie PDF pod adresem www.qiagen.com/safety. Na tej stronie można wyszukiwać, wyświetlać i drukować karty charakterystyki dla wszystkich zestawów i składników zestawów firmy QIAGEN.



PRZESTROGA: NIE dodawać wybielacza ani roztworów kwasowych bezpośrednio do odpadów zawierających bufor Buffer AL lub bufor Buffer AW1.

Bufory Buffer AL i Buffer AW1 zawierają chlorowodorek guanidyny, który może tworzyć wysoce reaktywne związki w połączeniu z wybielaczem. W przypadku rozlania płynu zawierającego te bufory należy wyczyścić go za pomocą odpowiedniego detergentu laboratoryjnego i wody. Jeśli rozlany płyn zawiera czynniki potencjalnie zakaźne, należy wyczyścić zalany obszar najpierw detergentem laboratoryjnym i wodą, a następnie 1-procentowym (stężenie objętościowe) podchlorynem sodu.

Jeśli butelki zawierające bufor są uszkodzone lub nieszczelne, podczas ich wyrzucania należy nosić rękawiczki i okulary ochronne, aby uniknąć obrażeń ciała lub spowodowania obrażeń u innych osób.

Firma QIAGEN nie badała odpadów płynnych powstających w procedurach QIAamp DSP Virus Spin pod kątem występowania pozostałości materiałów zakaźnych. Zanieczyszczenie odpadów płynnych pozostałościami materiałów zakaźnych jest mało prawdopodobne, ale nie można go całkowicie wykluczyć. Z tego powodu odpady płynne należy traktować jako zakaźne i należy postępować z nimi oraz usuwać je zgodnie z lokalnymi przepisami bezpieczeństwa.

Do składników zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit mają zastosowanie następujące zwroty wskazujące na zagrożenia i określające środki ostrożności:

Buffer AL



Zawiera: chlorowodorek guanidyny; kwas maleinowy. Uwaga! Może działać szkodliwie po połknięciu lub w następstwie wdychania. Działa drażniąco na skórę. Powoduje poważne podrażnienie oczu. Może powodować reakcję alergiczną skóry. W przypadku utrzymywania się podrażnienia oczu: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. Zdjąć skażoną odzież i uprać ją przed ponownym użyciem. Nosić rękawice ochronne/odzież ochronną/okulary ochronne/osłonę twarzy.

Buffer AW1



Zawiera: chlorowodorek guanidyny. Uwaga! Działa szkodliwie po połknięciu lub w następstwie wdychania. Działa drażniąco na skórę. Powoduje poważne podrażnienie oczu. W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub z lekarzem. Zawartość/pojemnik należy utylizować w zatwierdzonym zakładzie przetwarzania odpadów. Zdjąć skażoną odzież i uprać ją przed ponownym użyciem. Nosić rękawice ochronne/odzież ochronną/okulary ochronne/osłonę twarzy.

QIAGEN Protease



Zawiera: subtylizynę. Niebezpieczeństwo! Powoduje łagodne podrażnienie skóry. Powoduje poważne uszkodzenie oczu. Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania. Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgiełki/par/rozpylonej cieczy. Zawartość/pojemnik należy utylizować w zatwierdzonym zakładzie przetwarzania odpadów. W przypadku wystąpienia objawów ze strony układu oddechowego: Skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub z lekarzem. W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są założone i można to łatwo wykonać. Kontynuować płukanie. W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: W przypadku trudności z oddychaniem, wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić warunki do odpoczynku w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem. Nosić rękawice ochronne/odzież ochronną/okulary ochronne/osłonę twarzy. Stosować indywidualne środki ochrony dróg oddechowych.

Przechowywanie i sposób postępowania z odczynnikami

Kolumny QIAamp MinElute należy po otrzymaniu przechowywać w temperaturze 2–8°C.

Wszystkie bufora można przechowywać w temperaturze pokojowej (15–25°C).

Liofilizowany produkt Carrier RNA można przechowywać w temperaturze pokojowej (15–25°C) do upływu terminu ważności podanego na opakowaniu zestawu. Produkt Carrier RNA można rozpuszczać wyłącznie w buforze Buffer AVE; rozpuszczony produkt Carrier RNA należy natychmiast dodać do buforu Buffer AL zgodnie z opisem na stronie 16. Ten roztwór należy świeżo przygotowywać i jest on stabilny w temperaturze 2–8°C przez maks. 48 godzin. Niewykorzystane części produktu Carrier RNA rozpuszczonego w buforze Buffer AVE należy zamrozić w równych porcjach w temperaturze od –30°C do –15°C.

Liofilizowaną proteazę QIAGEN Protease (QP) można przechowywać w temperaturze pokojowej (15–25°C) do upływu terminu ważności zestawu bez negatywnego wpływu na skuteczność.

Proteaza QIAGEN Protease (QP) zrekonstruowana w rozpuszczalniku Protease Solvent (PS) jest stabilna przez maks. 1 rok w przypadku przechowywania w temperaturze 2–8°C, ale tylko do terminu ważności zestawu. Należy unikać przechowywania roztworu podstawowego proteazy QIAGEN Protease w temperaturze pokojowej przez dłuższy czas.

Zrekonstruowany bufor Wash Buffer 1 (AW1) i zrekonstruowany bufor Wash Buffer 2 (AW2) są stabilne przez maks. 1 rok w przypadku przechowywania w temperaturze pokojowej (15–25°C), ale tylko do terminu ważności podanego na opakowaniu zestawu.

Przechowywanie i sposób postępowania z próbkami

Po pobraniu i odwirowaniu osocze i surowicę można przechowywać w temperaturze 2–8°C przez maks. 6 godzin. W celu długotrwałego przechowywania zalecane jest zamrożenie w równych porcjach w temperaturze –20°C lub –80°C. Zamrożonych próbek osocza lub surowicy nie wolno rozmrażać więcej niż raz. Wielokrotne zamrażanie i rozmrażanie prowadzi do denaturacji i wytrącania białek, co powoduje zmniejszenie miana wirusów i z tego powodu zmniejszone uzyski wirusowych kwasów nukleinowych. Ponadto krioprecypitaty powstałe podczas zamrażania-rozmrażania zatykają membranę kolumny QIAamp MinElute. Jeśli krioprecypitaty są widoczne, można je zebrać przez odwirowanie przy około 6800 x g przez 3 minuty. Oczyszczony supernatant należy usunąć i natychmiast poddać obróbce bez naruszania osadu.

Procedura

Ważne informacje przed rozpoczęciem

- Po otrzymaniu zestawu należy sprawdzić składniki zestawu pod kątem uszkodzeń. Jeśli uszkodzone są opakowania blistrowe lub butelki z buforami, należy skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy QIAGEN lub lokalnym dystrybutorem. W przypadku rozlania płynów należy zapoznać się z częścią „Ostrzeżenia i środki ostrożności” (strona 11) Nie używać uszkodzonych składników zestawu, ponieważ ich użycie może prowadzić do obniżenia skuteczności zestawu.
- Należy zawsze stosować sprzęt niezawierający RNaz.
- Należy zawsze zmieniać końcówki pipet pomiędzy przenoszeniami płynów. W celu zminimalizowania prawdopodobieństwa zanieczyszczenia krzyżowego zalecamy stosowanie końcówek do pipet z barierą aerozolową.
- Wszystkie etapy odwirowywania należy przeprowadzać w temperaturze pokojowej (15–25°C).
- Należy zawsze używać rękawiczek jednorazowych i regularnie sprawdzać, czy nie są zanieczyszczone materiałem próbki. W przypadku zanieczyszczenia wyrzucić rękawiczki.
- W celu zminimalizowania prawdopodobieństwa zanieczyszczenia krzyżowego należy otwierać tylko jedną probówkę naraz.
- Nie używać składników innych zestawów z aktualnie używanym zestawem, chyba że numery serii są identyczne.
- Należy unikać skażenia mikrobiologicznego składników zestawu.
- W celu zapewnienia bezpieczeństwa przed materiałem potencjalnie zakaźnym zalecamy pracę w warunkach laminarnego przepływu powietrza do czasu lizy próbek.
- Zestaw powinien być stosowany wyłącznie przez personel przeszkolony w zakresie laboratoryjnych procedur diagnostycznych in vitro.

Sposób postępowania z kolumnami QIAamp MinElute

Z powodu czułości technologii amplifikacji kwasu nukleinowego podczas postępowania z kolumnami QIAamp MinElute konieczne jest podjęcie następujących środków ostrożności w celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego między przygotowaniem próbek:

- Ostrożnie nanosić próbkę lub roztwór na kolumnę QIAamp MinElute. Próbkę nanieść pipetą do kolumny QIAamp MinElute bez zamaczania brzegu kolumny.

- Zmieniać końcówki do pipet po każdym przeniesieniu płynu. Zalecane jest stosowanie końcówek do pipet z barierą aerozolową.
- Unikać dotykania membrany kolumny QIAamp MinElute końcówką pipety.
- Po wszystkich etapach wytrząsania pulsacyjnego krótko odwirować probówki do mikrowirówki, aby usunąć krople z wnętrza wieczka.
- Przez cały czas przeprowadzania procedury nosić rękawiczki. W przypadku styczności rękawiczek z próbką natychmiast zmienić rękawiczki.

Odwirowanie

- Probówki do płukania i probówki do elucji do wszystkich etapów odwirowywania są dostarczone razem z zestawem.
- Odwirowanie kolumn QIAamp MinElute należy przeprowadzać przy około 6000 x g w celu redukcji szumu wirówki. Odwirowanie kolumn QIAamp MinElute przy pełnej prędkości nie ma wpływu na uzysk DNA lub RNA.
- W przypadku odwirowania do sucha pod koniec procedury płukania i w przypadku elucji odwirowanie należy przeprowadzić przy pełnej prędkości.
- Wszystkie etapy odwirowywania należy przeprowadzać w temperaturze pokojowej (15–25°C).

Przetwarzanie kolumn QIAamp MinElute w mikrowirówce

- Przed umieszczeniem kolumny QIAamp MinElute w mikrowirówce należy ją zamknąć. Wirować zgodnie z opisem.
- Wyjąć kolumnę QIAamp MinElute i probówkę do płukania z mikrowirówki.
- Kolumnę QIAamp MinElute umieścić w nowej probówce do płukania. Wyrzucić przesącz i probówkę do płukania. Należy zwrócić uwagę, że przesącz może zawierać niebezpieczne odpady i należy go odpowiednio usunąć.
- Otwierać jednorazowo tylko jedną kolumnę QIAamp MinElute i zachować ostrożność, aby unikać wytwarzania aerozoli.

W celu wydajnego jednoczesnego przetwarzania wielu próbek zalecamy wypełnienie statywu probówkami do płukania, tak że możliwe jest przenoszenie kolumn QIAamp MinElute po odwirowaniu. Zużyte probówki do płukania zawierające przesącz można wyrzucić, a nowe probówki do płukania zawierające kolumny QIAamp MinElute można umieścić bezpośrednio w mikrowirówce.

Przygotowanie odczynników i buforów

■ Przygotowanie RNA

Podczas przygotowania wirusowego RNA należy szybko pracować podczas ręcznych etapów procedury oraz przed rozpoczęciem przeczytać Załącznik na stronie 25.

■ Przygotowanie proteazy QIAGEN Protease

Dodać całą zawartość fiołki zawierającej 4,4 ml rozpuszczalnika Protease Solvent (PS) do fiołki z liofilizowaną proteazą QIAGEN Protease (QP) i ostrożnie wymieszać. Aby uniknąć spieniania, wymieszać przez kilkakrotne odwrócenie fiołki. Upewnić się, że proteaza QIAGEN Protease (QP) jest całkowicie rozpuszczona.



Nie dodawać proteazy QIAGEN Protease (QP) bezpośrednio do buforu Buffer AL*.

Proteaza QIAGEN Protease (QP) zrekonstruowana w rozpuszczalniku Protease Solvent (PS) jest stabilna przez 1 rok w przypadku przechowywania w temperaturze 2–8°C, ale tylko do terminu ważności zestawu. Należy unikać przechowywania roztworu podstawowego proteazy QIAGEN Protease w temperaturze pokojowej przez dłuższy czas.

■ Dodawanie produktu Carrier RNA do buforu Buffer AL*

Dodać 310 µl buforu Buffer AVE do probówki zawierającej 310 µg liofilizowanego produktu Carrier RNA w celu uzyskania roztworu 1 µg/µl. Dokładnie rozpuścić produkt Carrier RNA, podzielić na równe porcje o objętości odpowiedniej do potrzeb i przechowywać w temperaturze od –25°C do –15°C. Nie zamrażać i nie rozmrażać porcji nośnika RNA więcej niż 3 razy.



Produkt Carrier RNA nie rozpuszcza się w buforze Buffer AL. Należy go najpierw rozpuścić w buforze Buffer AVE, a następnie dodać do buforu Buffer AL.

* Zawiera sól chaotropową. Podjąć odpowiednie środki ostrożności w laboratorium i nosić rękawiczki podczas pracy. Produkt nie jest zgodny ze środkami dezynfekującymi zawierającymi wybielacz. Informacje dotyczące bezpieczeństwa znajdują się na stronie 11.

Obliczyć objętość mieszaniny Buffer AL–Carrier RNA potrzebnej na partię próbek, wybierając liczbę próbek, które mają być jednocześnie przetwarzane, z tabeli 1, strona 17. Dla większej liczby próbek objętość można obliczyć za pomocą poniższego wzoru do obliczania próbek:

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

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

gdzie: **n** = liczba próbek do jednoczesnego przetworzenia


y = obliczona objętość buforu Buffer AL

z = objętość mieszaniny Carrier RNA–Buffer AVE do dodania do buforu Buffer AL

Delikatnie wymieszać, odwracając probówkę 10 razy. W celu uniknięcia spienienia nie używać wytrząsarki.

Tabela 1. Objętości (Obj.) buforu Buffer AL i mieszaniny Carrier RNA–Buffer AVE wymagane dla określonej liczby (L.) próbek do procedury QIAamp DSP Virus Spin

L. próbek	Obj. buforu Buffer AL (ml)	Obj. mieszaniny Carrier RNA-AVE (μl)	L. próbek	Obj. buforu Buffer AL (ml)	Obj. mieszaniny Carrier RNA-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

 Procedura przygotowania próbek jest zoptymalizowana dla 5,6 µg produktu Carrier RNA na próbkę. Jeśli wykazano, że mniejsza ilość produktu Carrier RNA jest lepsza dla systemu amplifikacji użytkownika, należy przenieść tylko wymaganą ilość rozpuszczonego produktu Carrier RNA do probówek zawierających bufor Buffer AL. Na każdy mikrogram produktu Carrier RNA wymaganego na przygotowanie, dodać 5 µl nośnika RNA rozpuszczonego w buforze Buffer AVE na mililitr buforu Buffer AL. Zastosowanie poniżej 5,6 µg produktu Carrier RNA na próbkę musi być poddane walidacji dla każdego konkretnego rodzaju próbki i dalszego oznaczenia.


Buffer AW1*

Dodać 25 ml etanolu (96–100%) do butelki zawierającej 19 ml koncentratu buforu Buffer AW1 w sposób opisany na butelce. Zaznaczyć na etykiecie, że etanol był dodany. Zrekonstruowany bufor Buffer AW1 przechowywać w temperaturze pokojowej (15–25°C). Zrekonstruowany bufor Buffer AW1 jest stabilny przez maks. 1 rok w przypadku przechowywania w temperaturze pokojowej, ale tylko do terminu ważności zestawu.

 Przed rozpoczęciem procedury należy zawsze wymieszać zrekonstruowany bufor Buffer AW1 przez wstrząsanie.

Buffer AW2†

Dodać 30 ml etanolu (96–100%) do butelki zawierającej 13 ml koncentratu buforu Buffer AW2 w sposób opisany na butelce. Zaznaczyć na etykiecie, że etanol był dodany. Zrekonstruowany bufor Buffer AW2 przechowywać w temperaturze pokojowej (15–25°C). Zrekonstruowany bufor Buffer AW2 jest stabilny przez maks. 1 rok w przypadku przechowywania w temperaturze pokojowej, ale tylko do terminu ważności zestawu.

 Przed rozpoczęciem procedury należy zawsze wymieszać zrekonstruowany bufor Buffer AW2 przez wstrząsanie.

Elucja kwasów nukleinowych

Bufor do elucji należy doprowadzić do temperatury pokojowej przed naniesieniem go na kolumnę.

* Zawiera sól chaotropową. Podjąć odpowiednie środki ostrożności w laboratorium i nosić rękawiczki podczas pracy. Produkt nie jest zgodny ze środkami dezynfekującymi zawierającymi wybielacz. Informacje dotyczące bezpieczeństwa znajdują się na stronie 11.

† Zawiera azydek sodu jako środek konserwujący.

Protokół: Oczyszczanie wirusowych kwasów nukleinowych z osocza lub surowicy

Protokół ten jest przeznaczony do oczyszczania wirusowych kwasów nukleinowych z 200 µl osocza lub surowicy przy użyciu zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit i mikrowirówki. W celu przeprowadzenia zautomatyzowanego oczyszczania przy użyciu zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit wykonywanego w analizatorze QIAcube należy zapoznać się z dokumentem *QIAcube — Instrukcja obsługi* (QIAcube User Manual) oraz odpowiednią kartą protokołu.

Ważna informacja przed rozpoczęciem


- Wszystkie etapy odwirowywania należy przeprowadzać w temperaturze pokojowej (15–25°C).

Czynności do wykonania przed rozpoczęciem

- Doprowadzić próbki do temperatury pokojowej (15–25°C).
- Doprowadzić bufor Buffer AVE do temperatury pokojowej w celu przeprowadzania elucji w etapie 14.
- Ustawić blok grzewczy na temperaturę 56°C ±3°C do użycia w etapie 4.
- Upewnić się, że bufor Buffer AW1 i Buffer AW2 oraz proteaza QIAGEN Protease (QP) zostały przygotowane zgodnie z instrukcjami na stronach 16–18.
- Dodać produkt Carrier RNA zrekonstruowany w buforze Buffer AVE do buforu Buffer AL zgodnie z instrukcjami na stronie 16.

Procedura

- 1. Za pomocą pipety przenieść 25 µl proteazy QIAGEN Protease (QP) do próbki do lizy (lysis tube, LT).**

 Przeczytać część „Przygotowanie odczynników i buforów”, strona 16, aby uzyskać informacje o zawieszaniu proteazy QIAGEN Protease (QP) w rozpuszczalniku Protease Solvent (PS).

- 2. Dodać 200 µl osocza lub surowicy do próbki do lizy (LT).**

Jeśli objętość próbki jest mniejsza niż 200 µl, dodać odpowiednią objętość 0,9-procentowego roztworu chlorku sodu w celu dopełnienia objętości proteazy i próbki do łącznej objętości 225 µl.

3. **Dodać 200 µl buforu Buffer AL (zawierającego 28 µg/ml produktu Carrier RNA). Zamknąć zatyczkę i wytrząsać pulsacyjnie przez ≥15 sekund.**

Aby zapewnić skuteczną lizę, istotne jest, aby próbka i bufor Buffer AL były dobrze wymieszane i tworzyły roztwór jednorodny.



Nie dodawać proteazy QIAGEN Protease (QP) bezpośrednio do Buffer AL.

4. **Inkubować w temperaturze 56°C ±3°C przez 15 minut ±1 minuta w bloku grzewczym.**
5. **Krótko odwirować próbkę do lizy (LT) w celu usunięcia kropli z wnętrza wieczka.**
6. **Dodać 250 µl etanolu (96–100%) do próbki, zamknąć wieczko i dokładnie wymieszać, wytrząsając pulsacyjnie przez ≥15 sekund. Inkubować lizat z etanolem przez 5 minut ±30 sekund w temperaturze pokojowej (15–25°C).**



Jeśli temperatura otoczenia przekracza 25°C, etanol należy schłodzić na lodzie przed dodaniem do lizatu.

7. **Krótko odwirować próbkę w celu usunięcia kropli z wnętrza wieczka.**
8. **Ostrożnie nanieść cały lizat z etapu 7 do kolumny QIAamp MinElute bez zamaczania brzegu. Zamknąć zatyczkę i odwirowywać przy około 6000 x g przez >1 minutę. Umieścić kolumnę QIAamp MinElute w czystej próbówce do płukania (wash tube, WT) o pojemności 2 ml i wyrzucić próbkę do płukania zawierającą przesącz.**

Jeśli lizat nie przeszedł całkowicie przez kolumnę po odwirowaniu, należy wykonać ponowne wirowanie przy większej prędkości aż kolumna QIAamp MinElute nie będzie pusta.

9. **Ostrożnie otworzyć kolumnę QIAamp MinElute, a następnie dodać 500 µl buforu Buffer AW1 bez zamaczania brzegu. Zamknąć zatyczkę i odwirowywać przy około 6000 x g przez ≥1 minutę. Umieścić kolumnę QIAamp MinElute w czystej próbówce do płukania (WT) o pojemności 2 ml i wyrzucić próbkę do płukania zawierającą przesącz.**
10. **Ostrożnie otworzyć kolumnę QIAamp MinElute, a następnie dodać 500 µl buforu Buffer AW2 bez zamaczania brzegu. Zamknąć zatyczkę i odwirowywać przy około 6000 x g przez >1 minutę. Umieścić kolumnę QIAamp MinElute w czystej próbówce do płukania o pojemności 2 ml i wyrzucić próbkę do płukania zawierającą przesącz.**

- 11. Ostrożnie otworzyć kolumnę QIAamp MinElute i dodać 500 µl etanolu (96–100%) bez zamaczania brzegu. Zamknąć zatyczkę i odwirowywać przy około 6000 x g przez >1 minutę. Wyrzucić probówkę do płukania zawierającą przesącz.**

Przeniesienie etanolu do eluatu może powodować problemy podczas dalszych zastosowań. Niektóre rotory wirówek mogą drgać po zwolnieniu, co prowadzi do przepływu płynu zawierającego etanol i jego styczności z kolumną QIAamp MinElute. Wyjęcie kolumny QIAamp MinElute i próbki do płukania z rotora może również powodować styczność przepływającego płynu z kolumną QIAamp MinElute.

- 12. Umieścić kolumnę QIAamp MinElute w czystej probówce do płukania (WT) o pojemności 2 ml. Wirować przy pełnej prędkości (około 20 000 x g) przez 3 minuty ±30 sekund w celu całkowitego osuszenia membrany.**
- 13. Umieścić kolumnę QIAamp MinElute w czystej probówce do płukania (WT) o pojemności 2 ml, otworzyć wieczko i inkubować zestaw w temperaturze 56°C ±3°C przez 3 minuty ±30 sekund w celu całkowitego osuszenia membrany.**

Etap ten służy do odparowania wszelkich pozostałości płynu.

- 14. Umieścić kolumnę QIAamp MinElute w probówce do elucji (ET) i wyrzucić probówkę do płukania zawierającą przesącz. Ostrożnie otworzyć wieczko kolumny QIAamp MinElute i nanieść 20–150 µl buforu Buffer AVE na środek membrany. Zamknąć wieczko i inkubować w temperaturze pokojowej przez 5 minut. Wirować przy pełnej prędkości (około 20 000 x g) przez >1 minutę.**



Upewnić się, że bufor do elucji jest doprowadzony do temperatury pokojowej. Jeśli elucja jest przeprowadzana w małych objętościach (<50 µl), bufor do elucji należy podać na środek membrany w celu całkowitej elucji związanego RNA i DNA.

Objętość elucji jest elastyczna i można ją dostosowywać zgodnie z wymaganiami dalszych zastosowań. Należy pamiętać, że odzyskana objętość eluatu będzie o około 5 µl mniejsza niż objętość buforu do elucji naniesiona na kolumnę.

Kontrola jakości

Zgodnie z poświadczonym certyfikatem ISO systemem zarządzania jakością firmy QIAGEN każda seria zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit jest testowana pod kątem wstępnie ustalonych specyfikacji w celu zapewnienia spójnej jakości produktu.

Ograniczenia

Skuteczność systemu ustalono przy użyciu próbek osocza i surowicy krwi do izolacji wirusowych kwasów nukleinowych.

Użytkownik jest odpowiedzialny za walidację skuteczności systemu pod kątem wszelkich procedur stosowanych w danym laboratorium, które nie są objęte badaniami skuteczności wykonanymi przez firmę QIAGEN.

W celu zminimalizowania ryzyka negatywnego wpływu na wyniki diagnostyczne należy stosować odpowiednie kontrole do dalszych zastosowań. W celu dalszej walidacji zalecane jest przestrzeganie wytycznych Międzynarodowej Konferencji ds. Harmonizacji Wymagań Technicznych (ICH) dostępnych w przewodniku *ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text And Methodology*.

Wszelkie uzyskane wyniki diagnostyczne należy interpretować w połączeniu z innymi wynikami badań klinicznych i laboratoryjnych.

Parametry skuteczności

Parametry skuteczności zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit można znaleźć pod adresem www.qiagen.com/goto/QIAampDSPVirusSpinPerformance.

Literatura

Firma QIAGEN udostępnia obszerną, aktualną internetową bazę danych publikacji naukowych dotyczących produktów QIAGEN. Zaawansowane opcje wyszukiwania umożliwiają znajdowanie potrzebnych artykułów według słów kluczowych lub zastosowań, obszarów badań, tytułów itp.

W celu uzyskania listy pozycji literaturowych należy odwiedzić internetową bazę danych firmy QIAGEN pod adresem www.qiagen.com/RefDB/search.asp lub skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy QIAGEN lub lokalnym dystrybutorem firmy QIAGEN.

Symbole



<N>

Zawiera odczynniki wystarczające do wykonania <N> przygotowań próbek



Zapoznać się z instrukcją użycia



Termin ważności



Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro



Numer katalogowy



Ważna informacja



Numer serii



Numer materiału



Składniki



Objętość



Zakres temperatury



Producent



Po otrzymaniu



Otworzyć w momencie dostawy; kolumny QIAamp MinElute przechowywać w temperaturze 2–8°C



Po dodaniu etanolu do butelki zapisać bieżącą datę



Dodawanie



Zawiera

LYOPH	Liofilizowane
RCNS	Rekonstruować w
EtOH	Etanol
GuHCl	Chlorowodorek guanidyny
MALEIC ACID	Kwas maleinowy
SUBT	Subtylizyna
GTIN	Globalny numer jednostki handlowej
→	Prowadzi do

Informacje kontaktowe

W firmie QIAGEN szczerzymy się jakością i dostępnością naszej pomocy technicznej. W naszych działach pomocy technicznej pracują doświadczeni naukowcy o rozległej wiedzy praktycznej i teoretycznej w dziedzinie technologii postępowania z próbkami i wykonywania oznaczeń oraz stosowania produktów firmy QIAGEN. W razie jakichkolwiek pytań lub trudności dotyczących zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit lub produktów firmy QIAGEN prosimy o kontakt.

Klienci firmy QIAGEN są głównym źródłem informacji odnośnie do zaawansowanych lub wyspecjalizowanych zastosowań naszych produktów. Informacje takie są pomocne dla innych naukowców, jak również dla badaczy w firmie QIAGEN. Dlatego zachęcamy do kontaktu z nami w razie jakichkolwiek sugestii odnośnie skuteczności produktów lub nowych zastosowań i technik.

W celu uzyskania pomocy technicznej lub szczegółowych informacji należy odwiedzić witrynę naszego Centrum Pomocy Technicznej pod adresem www.qiagen.com/Support lub skontaktować się z jednym z działów pomocy technicznej firmy QIAGEN lub lokalnym dystrybutorem (patrz tylna okładka lub strona www.qiagen.com).

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

Załącznik

Postępowanie z RNA

Rybonukleazy (RNazy) są bardzo stabilnymi i aktywnymi enzymami, które na ogół nie wymagają kofaktorów do działania. Ponieważ RNazy trudno inaktywować i nawet bardzo małe ich ilości wystarczają do zniszczenia RNA, nie wolno używać jakichkolwiek sprzętów wykonanych ze szkła lub z tworzywa sztucznego bez wcześniejszego wyeliminowania możliwego zanieczyszczenia RNazami. Należy zachować ostrożność, aby uniknąć przypadkowego wprowadzenia RNaz do próbki z RNA w trakcie trwania lub po zakończeniu procedury izolacji. Aby wytworzyć i zachować środowisko niezawierające RNaz, należy wdrożyć następujące środki ostrożności na etapach obróbki wstępnej oraz stosowania jednorazowych i wielorazowych naczyń i roztworów podczas pracy z RNA.

Ogólne postępowanie

Podczas pracy z RNA należy zawsze stosować prawidłową mikrobiologiczną technikę aseptyczną. Dłonie i cząsteczki kurzu mogą przenosić bakterie i pleśnie i są najczęstszymi źródłami zanieczyszczeń RNazami. Podczas postępowania z odczynnikami i próbkami RNA należy zawsze nosić lateksowe lub winylowe rękawiczki, aby uniknąć zanieczyszczenia RNazami z powierzchni skóry lub zakurzonych urządzeń laboratoryjnych. Rękawiczki należy często zmieniać, a próbówki trzymać zamknięte.

Wielorazowy sprzęt z tworzywa sztucznego

Wielorazowe sprzęty z tworzywa sztucznego należy poddać przygotowaniu przed użyciem w celu zagwarantowania, że są one wolne od RNaz. Sprzęty z tworzywa sztucznego należy dokładnie przepłukać roztworem NaOH o stężeniu 0,1 M,* EDTA* o stężeniu 1 mM, a następnie wodą pozbawioną RNaz* (patrz część „Roztwory”, strona 27). Możliwe jest również przepłukanie sprzętów z tworzywa sztucznego odpornych na chloroform chloroformem* w celu inaktywacji RNaz.

* Podczas pracy ze środkami chemicznymi należy zawsze używać odpowiedniego fartucha laboratoryjnego, rękawiczek jednorazowych i okularów ochronnych. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z kartami charakterystyki (SDS) uzyskanymi od producentów poszczególnych produktów.

Sprzęt wykonany ze szkła

Sprzęty wykonane ze szkła należy poddać przygotowaniu przed użyciem w celu zagwarantowania, że są one wolne od RNaz. Sprzęty wykonane ze szkła stosowane do pracy z RNA należy przed użyciem wyczyścić detergentem, dokładnie wypłukać i wysuszyć w piecu w temperaturze $>240^{\circ}\text{C}$ przez cztery lub więcej godzin (przez noc, jeśli wygodniej). Sama sterylizacja w autoklawie nie powoduje całkowitej inaktywacji wielu RNaz. Suszenie w piecu inaktywuje rybonukleazy i zapewnia, że żadne inne kwasy nukleinowe (takie jak plazmid DNA) nie pozostaną na powierzchni sprzętów wykonanych ze szkła. Sprzęty wykonane ze szkła można również poddać działaniu DEPC* (ester dietylowego kwasu pirowęglowego). Sprzęty wykonane ze szkła zalać 0,1-procentowym DEPC w wodzie i pozostawić na noc (12 godzin) w temperaturze 37°C , a następnie wysterylizować w autoklawie lub ogrzać do temperatury 100°C przez 15 minut w celu usunięcia pozostałości DEPC.

❶ Probówki Corex® należy pozbawić RNaz poprzez poddanie działaniu DEPC, a nie suszenie w piecu. Zmniejszy to wskaźnik awaryjności tego rodzaju probówek w czasie odwirowywania.

Zbiorniki do elektroforezy

Zbiorniki do elektroforezy należy wyczyścić roztworem detergentu (np. 0,5-procentowym SDS),* wypłukać wodą, wysuszyć etanolem*,† a następnie napęlnić roztworem 3-procentowego nadtlenu wodoru*. Po 10 minutach w temperaturze pokojowej zbiorniki do elektroforezy należy dokładnie wypłukać wodą pozbawioną RNaz.

* Podczas pracy z substancjami chemicznymi należy zawsze nosić odpowiedni fartuch laboratoryjny, jednorazowe rękawiczki i okulary ochronne. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z kartami charakterystyki (SDS) uzyskanymi od producentów poszczególnych produktów.


† Tworzywa sztuczne stosowane do niektórych zbiorników do elektroforezy nie są odporne na etanol. Należy zachować ostrożność i sprawdzić instrukcje dostarczone przez dostawcę.

Roztwory

Roztwory (wodę i inne roztwory) należy poddać działaniu 0,1-procentowego DEPC. DEPC reaguje z aminami pierwszorzędowymi i nie można go stosować bezpośrednio z buforami Tris. DEPC jest wysoce niestabilny w obecności buforów Tris i szybko rozpada się na etanol i CO₂. Podczas przygotowania buforów Tris należy najpierw poddać wodę działaniu DEPC, a następnie rozpuścić Tris w celu sporządzenia odpowiedniego buforu.

DEPC jest silnym, ale nie absolutnym inhibitorem RNaz. Jest on powszechnie stosowany w stężeniu 0,1% do inaktywacji RNaz na sprzętach wykonanych ze szkła lub z tworzywa sztucznego lub do sporządzenia roztworów i wody wolnych od RNaz. DEPC inaktywuje RNazy poprzez modyfikację kowalencyjną. Śladowe ilości DEPC modyfikują purynowe pozostałości w RNA poprzez proces karboksyetylacji. Karboksyetylowane RNA ulega translacji z bardzo małą skutecznością w systemach bezkomórkowych. Jednak nie ma to poważnego wpływu na jego zdolność do tworzenia hybryd DNA:RNA lub RNA:RNA, chyba że zmodyfikowano dużą frakcję pozostałości puryny. Pozostałości DEPC należy zawsze usuwać z roztworów lub naczyń poprzez sterylizację w autoklawie lub ogrzewanie do temperatury 100°C ±3°C przez 15 minut ±1 minuta.

Dodać 0,1 ml DEPC do 100 ml roztworu, który ma być poddany jego działaniu, energicznie wstrząsnąć w celu przeniesienia DEPC do roztworu lub pozostawić roztwór do inkubacji przez >12 godzin w temperaturze 37°C ±3°C. Sterylizować w autoklawie przez 15 minut ±1 minuta w celu usunięcia pozostałości DEPC. Może być pożądane zbadanie źródeł wody pod kątem obecności zanieczyszczających RNaz, ponieważ wiele źródeł wody destylowanej jest wolnych od aktywności RNaz.

 Bufory zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit nie są uwalniane od RNaz poprzez poddanie ich działaniu DEPC i w związku z tym są pozbawione zanieczyszczeń DEPC.

Znaki towarowe: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, MinElute® (QIAGEN Group); Corex® (Corning, Inc.).

Zastrzeżonych nazw, znaków towarowych itd. wykorzystywanych w niniejszym dokumencie, nawet jeżeli nie zostały oznaczone jako zastrzeżone, nie można uważać za niechronione przepisami prawa.

Ograniczona umowa licencyjna dla zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit

Używanie tego produktu oznacza wyrażenie zgody nabywcy lub użytkownika zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit na następujące warunki:

1. Zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit można używać wyłącznie zgodnie z dokumentem *QIAamp DSP Virus Spin Kit — Instrukcja obsługi* i tylko razem ze składnikami zawartymi w zestawie. Firma QIAGEN nie udziela żadnej licencji w zakresie praw własności intelektualnej do użytkowania niniejszego zestawu ze składnikami nienależącymi do zestawu, z wyjątkiem przypadków opisanych w dokumencie *QIAamp DSP Virus Spin Kit — Instrukcja obsługi* oraz dodatkowych protokołach dostępnych na stronie www.qiagen.com.
2. Za wyjątkiem wyraźnie określonych licencji, firma QIAGEN nie udziela gwarancji, że ten zestaw i/lub jego stosowanie nie narusza praw stron trzecich.
3. Ten zestaw i jego składniki posiadają licencję wyłącznie na jednorazowe użycie i nie można ich ponownie używać, regenerować lub sprzedawać.
4. Firma QIAGEN nie udziela innych licencji wyrażonych lub dorozumianych poza tymi, które są wyraźnie określone.
5. Nabywca i użytkownik zestawu zobowiązuje się nie podejmować działań ani nie zezwalać innym osobom na podejmowanie działań, które mogą doprowadzić do wykonania lub umożliwić wykonanie zabronionych czynności wymienionych powyżej. Firma QIAGEN może egzekwować zakazy niniejszej Ograniczonej umowy licencyjnej w sądzie i będzie dochodzić odzyskania wszystkich kosztów sądowych i procesowych, w tym wynagrodzeń prawników, w odniesieniu do wszelkich działań, które będą miały na celu wykonanie postanowień niniejszej Ograniczonej umowy licencyjnej lub praw do własności intelektualnej związanych z tym zestawem i/lub jego składnikami.

Aktualne warunki licencyjne dostępne są na stronie www.qiagen.com.

© 2015 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.

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

