

Styczeń 2021 r.

# QIAamp<sup>®</sup> DSP Virus Spin Kit — Instrukcja użycia (Instrukcja obsługi)



Wersja 1



Do diagnostyki in vitro



61704



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden  
Tel.: +49-2103-29-0



1122785PL



# Spis treści

Przeznaczenie .....	5
Opis i procedura .....	6
Zautomatyzowane oczyszczanie wirusowego kwasu nukleinowego w aparacie QIAcube lub QIAcube Connect MDx .....	6
Podsumowanie i objaśnienie .....	13
Dostarczone materiały .....	14
Zawartość zestawu .....	14
Materiały wymagane, ale niedostarczone .....	15
Ostrzeżenia i środki ostrożności .....	16
Informacje dotyczące bezpieczeństwa .....	16
Przechowywanie i sposób postępowania z odczynnikami .....	19
Przechowywanie i sposób postępowania z próbkami .....	20
Procedura .....	21
Ważne informacje przed rozpoczęciem .....	21
Sposób postępowania z kolumnami QIAamp MinElute .....	22
Odwirowanie .....	22
Przetwarzanie kolumn QIAamp MinElute w mikrowirówce .....	23
Przygotowanie odczynników i buforów .....	23
Protokół: Oczyszczanie wirusowych kwasów nukleinowych z osocza lub surowicy przy użyciu mikrowirówki lub aparatu QIAcube/QIAcube Connect MDx .....	27
Kontrola jakości .....	31
Ograniczenia .....	31

---

Symbole .....	32
Informacje kontaktowe.....	34
Załącznik .....	35
Informacje dotyczące zamawiania.....	38
Historia zmian dokumentu .....	40

---

# Przeznaczenie

Zestaw 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.

---

## Opis i procedura

Procedura QIAamp DSP Virus Spin obejmuje 4 etapy (liza, wiązanie, płukanie i elucja) i jest przeprowadzana przy użyciu kolumn QIAamp MinElute® w standardowej mikrowirówce lub w zautomatyzowany sposób w aparatach QIAcube i QIAcube Connect MDx. Procedura jest zaprojektowana w taki sposób, aby zminimalizować możliwość zanieczyszczenia krzyżowego między próbkami i umożliwia 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.

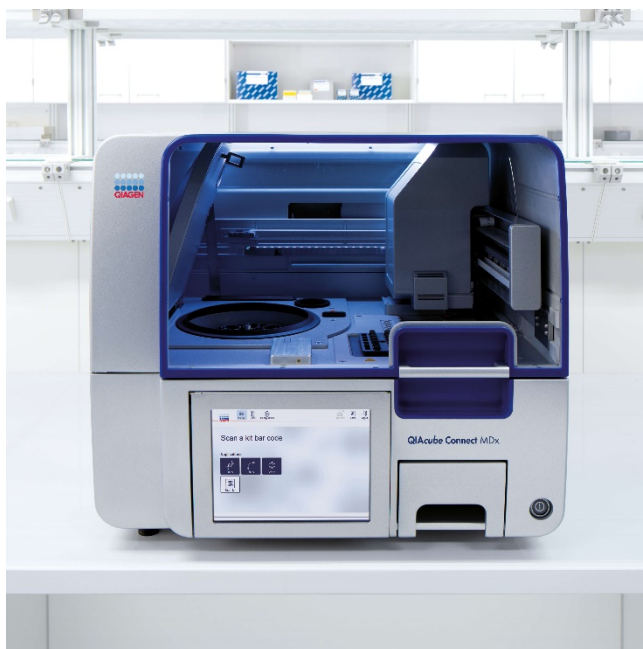
### Zautomatyzowane oczyszczanie wirusowego kwasu nukleinowego w aparacie QIAcube lub QIAcube Connect MDx

W aparatach QIAcube i QIAcube Connect MDx w sposób zautomatyzowany przeprowadzane są etapy izolacji i oczyszczania kwasów nukleinowych. Aparaty te umożliwiają przetwarzanie do 12 próbek w jednym cyklu.

W przypadku stosowania zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit w sposób zautomatyzowany w aparacie QIAcube lub aparacie QIAcube Connect MDx, 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.



**Ryc. 1. Aparat QIAcube.**



**Ryc. 2. Aparat QIAcube Connect MDx.**

## 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 (ET, dostarczone w zestawie). Zalecane jest przechowywanie DNA lub RNA w temperaturach od -30 do -15°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 nośnika RNA niż wirusowego RNA.

## Procedura QIAamp DSP Virus Spin

Próbka



Liza



Wiązanie



Płukanie  
(Buffer AW1,  
zalecany)



Płukanie  
(Buffer AW2)



Płukanie  
(etanol)



Odwirowanie  
do sucha  
(użyć nowej probówki  
do pobierania próbki)



Elucja



Czysty wirusowy kwas nukleinowy

Możliwość automatyzacji w aparacie QIAcube/QIAcube Connect MDx

---

## Nośnik RNA

Nośnik 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 nośnika 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 nośnik 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 nośnik RNA, a ilość nośnika RNA znacznie przekracza ilość wirusowych kwasów nukleinowych. Obliczenia, ile eluatu dodać do dalszych amplifikacji, należy z tego powodu opierać na ilości dodanego nośnika RNA. W celu osiągnięcia najwyższych poziomów czułości w reakcjach amplifikacji może być konieczne dostosowanie ilości nośnika 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 nośnikiem RNA do buforu do lizy. 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.


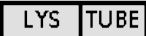










---

## 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. Próbki mogą być świeże lub zamrożone, pod warunkiem, że nie były zamrażane i rozmrażane więcej niż raz (patrz strona 20). Wirusowe kwasy nukleinowe są eluowane buforem Buffer AVE, gotowe do użycia w reakcjach amplifikacji lub do przechowywania w temperaturze od –30 do –15°C.

# Dostarczone materiały

## Zawartość zestawu

<b>QIAamp DSP Virus Spin Kit</b>			
<b>Nr katalogowy</b>			<b>61704</b>
<b>Liczba przygotowań</b>			<b>50<sup>§</sup></b>
QIAamp MinElute	QIAamp MinElute Columns with Wash Tubes (WT) (Kolumny QIAamp MinElute z probówkami do płukania) (2 ml)		50
LT	Lysis Tubes (Probówki do lizy) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (Probówki do elucji) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (Probówki do płukania) (2 ml)		5 x 50
AL	Lysis Buffer (Bufor do lizy)*		33 ml
AW1	Wash Buffer 1 (Bufor płuczący 1)* (koncentrat)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (Bufor płuczący 2) <sup>†</sup> (koncentrat)		13 ml
AVE	Elution Buffer (Bufor do elucji) <sup>†</sup> (fioletowe zatyczki)		4 x 2 ml
PS	Protease Solvent (Rozpuszczalnik proteazy) <sup>†</sup>		4,4 ml
Carrier	Carrier RNA (Nośnik RNA) (czerwone zatyczki)		310 µg
QP	QIAGEN Protease <sup>‡</sup>		1 fiolka
–	Instrukcja użycia (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 16.

<sup>†</sup> Zawiera azydek sodu jako środek konserwujący.

<sup>‡</sup> Patrz „Przygotowanie odczynników i buforów”, strona 23.

<sup>§</sup> W przypadku stosowania zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit w sposób zautomatyzowany w aparacie QIAcube lub QIAcube Connect MDx, 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<sup>†</sup> i końcówki do pipet (aby nie dopuścić do zanieczyszczenia krzyżowego zdecydowanie zaleca się używanie końcówek do pipet z barierami aerolowymi)
- Blok grzewczy<sup>†</sup> do lizy próbek w temperaturze 56°C
- Mikrowirówka<sup>†</sup> (z rotorem dla próbek o pojemności 1,5 ml i 2 ml)
- Wytrząsarka
- Dla próbek o objętości <200 µl: 0,9-procentowy roztwór NaCl

## Tylko dla procedury zautomatyzowanej

- Rotor Adapters, nr kat. 990394
- Rotor Adapter Holder, nr kat. 990392
- Sample Tubes CB (2 ml), nr kat. 990382 (próbówka wejściowa z próbką)
- Shaker Rack Plugs, nr kat. 9017854
- Reagent Bottles, 30 ml, nr kat. 990393
- Filter-Tips, 1000 µl, nr kat. 990352
- Filter-Tips, 1000 µl, z dużym otworem wylotowym, nr kat. 990452
- Filter-Tips, 200 µl, nr kat. 990332
- SafeSeal Tube, 1.5 ml, Sarstedt<sup>®</sup> (nr kat. 72.706)

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

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

# Ostrzeżenia i środki ostrożności

Należy pamiętać, że może być wymagane zgłoszenie poważnych incydentów, które wystąpiły w związku z wyrobem, producentowi oraz właściwemu organowi państwa, w którym przebywa użytkownik i/lub pacjent.

## Informacje dotyczące bezpieczeństwa

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 (safety data sheet, SDS). Są one dostępne online w wygodnym i kompaktowym formacie PDF pod adresem [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety). Na tej stronie można wyszukiwać, wyświetlać i drukować karty charakterystyki dla wszystkich zestawów i składników zestawów firmy QIAGEN.



**PRZESTROGA:** NIE dolewać wybielacza ani roztworów kwasowych bezpośrednio do odpadów powstałych po przygotowaniu próbek.

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 bufony 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 (v/v) 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. Ostrzeżenie! 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. Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

#### Buffer AW1



Zawiera: chlorowodorek guanidyny. Ostrzeżenie! 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. Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę 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/oparów/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 je łatwo usunąć. Nadal płukać. W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: w przypadku trudności z oddychaniem wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do odpoczynku w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem. Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę 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 nośnik RNA można przechowywać w temperaturze pokojowej do upływu terminu ważności podanego na opakowaniu zestawu. Nośnik RNA można rozpuszczać wyłącznie w buforze Buffer AVE; rozpuszczony nośnik RNA należy natychmiast dodać do buforu Buffer AL zgodnie z opisem na stronie 23 (dotyczy wyłącznie procedury ręcznej). Ten roztwór należy świeżo przygotowywać i jest on stabilny w temperaturze 2–8°C przez maks. 48 godzin. Niewykorzystane części nośnika 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 do daty ważności zestawu bez negatywnego wpływu na skuteczność.

Proteaza QIAGEN Protease (QP) zrekonstruowana w rozpuszczalniku proteazy (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 płuczący 1 (AW1) i zrekonstruowany bufor płuczący 2 (AW2) są stabilne przez maks. 1 rok w przypadku przechowywania w temperaturze pokojowej, 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 od –80 do –20°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 serwisem technicznym firmy QIAGEN lub lokalnym dystrybutorem. W przypadku rozlania płynów należy zapoznać się z częścią „Ostrzeżenia i środki ostrożności” (strona 16). Nie używać uszkodzonych składników zestawu, ponieważ ich użycie może prowadzić do obniżenia skuteczności zestawu.
- Należy zawsze stosować sprzęt niezawierający RNaz.
- Należy zawsze zmieniać końcówki do pipet pomiędzy przenoszeniami płynów. W celu zminimalizowania prawdopodobieństwa zanieczyszczenia krzyżowego zalecamy stosowanie końcówek do pipet z barierą aerozoloną.
- Wszystkie etapy wirowania 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 zutylizować rękawiczki.
- W celu zminimalizowania prawdopodobieństwa zanieczyszczenia krzyżowego należy otwierać tylko jedną próbkę 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.
- W przypadku stosowania protokołu zautomatyzowanego należy postępować zgodnie z instrukcjami zawartymi w kartach protokołów (aparat QIAcube) lub na ekranie oprogramowania (aparat QIAcube Connect MDx) i zapoznać się z odpowiednimi instrukcjami obsługi (dla aparatów QIAcube i QIAcube Connect MDx).
- Zestaw powinien być stosowany wyłącznie przez personel przeszkolony w zakresie laboratoryjnych procedur diagnostyki 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 próbki 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 35.

- **Przygotowanie proteazy QIAGEN Protease**

Dodać całą zawartość fiołki zawierającej 4,4 ml rozpuszczalnika proteazy (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.\*

\* 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 16.

Proteaza QIAGEN Protease (QP) zrekonstruowana w rozpuszczalniku proteazy (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 nośnika RNA do buforu Buffer AL\* (wyłącznie procedura ręczna)

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

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

Obliczyć objętość mieszaniny Buffer AL–nośnik RNA potrzebnej na partię próbek, wybierając liczbę próbek, które mają być jednocześnie przetwarzane, z Tabeli 1, strona 25. Dla większej liczby próbek objętość można obliczyć za pomocą poniższego wzoru do obliczania próbek:

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

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

gdzie: n = liczba próbek do jednoczesnego przetworzenia

y = obliczona objętość buforu Buffer AL

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

Delikatnie wymieszać, odwracając probówkę 10 razy. W celu uniknięcia spienienia nie używać wytrząsarki. W przypadku stosowania procedury zautomatyzowanej aparat QIAcube/QIAcube Connect MDx dodaje nośnik RNA 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 16.



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

L. próbek	Obj. buforu Buffer AL (ml)	Obj. mieszaniny nośnik RNA–AVE (µl)	L. próbek	Obj. buforu Buffer AL (ml)	Obj. mieszaniny nośnik 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 nośnika RNA na próbkę. Jeśli wykazano, że mniejsza ilość nośnika RNA jest lepsza dla systemu amplifikacji użytkownika, należy przenieść tylko wymaganą ilość rozpuszczonego nośnika RNA do probówek zawierających bufor Buffer AL. Na każdy mikrogram nośnika RNA wymaganego na przygotowanie, dodać 5 µl nośnika RNA rozpuszczonego w buforze Buffer AVE na mililitr buforu Buffer AL. Zastosowanie poniżej 5,6 µg nośnika 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. 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. 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 16.

† Zawiera azydek sodu jako środek konserwujący.

## Protokół: Oczyszczanie wirusowych kwasów nukleinowych z osocza lub surowicy przy użyciu mikrowirówki lub aparatu QIAcube/QIAcube Connect MDx

Do oczyszczania wirusowych kwasów nukleinowych z 200 µl osocza lub surowicy przy użyciu zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit i mikrowirówki lub w sposób zautomatyzowany w aparacie QIAcube lub QIAcube Connect MDx.

### Ważne informacje przed rozpoczęciem

- Wszystkie etapy wirowania należy przeprowadzać w temperaturze pokojowej (15–25°C).
- Poniższa procedura zawiera instrukcje dotyczące przetwarzania pojedynczej próbki. Możliwe jest jednak przetwarzanie wielu próbek jednocześnie; liczba ta zależy od pojemności używanej mikrowirówki.
- W aparacie QIAcube lub QIAcube Connect MDx można w sposób zautomatyzowany przetwarzać od 2 do 10 próbek lub 12 próbek.
- W przypadku stosowania protokołu zautomatyzowanego należy postępować zgodnie z instrukcjami zawartymi w kartach protokołów (aparat QIAcube) lub na ekranie oprogramowania (aparat QIAcube Connect MDx) i zapoznać się z odpowiednimi instrukcjami obsługi (dla aparatów QIAcube i QIAcube Connect MDx).

### 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 21–26.
- Dodać nośnik RNA zrekonstruowany w buforze Buffer AVE do buforu Buffer AL zgodnie z instrukcjami na stronie 23 (dotyczy wyłącznie procedury ręcznej).

## Procedura

- W przypadku stosowania procedury ręcznej z mikrowirówką wykonać kroki 1–14.
- Procedurę tę można wykonać w zautomatyzowany sposób w aparacie QIAcube Connect MDx w dwóch wersjach:
  - Plasma or Serum\_Standard: w pełni zautomatyzowany protokół wykonywany przy użyciu 200 µl próbki (rozpoczynając od kroku 1)
  - Plasma or Serum\_Manual lysis: częściowo zautomatyzowany protokół; liza wykonywana ręcznie poza aparatem przy użyciu 200 µl próbki pierwotnej (rozpoczynając od kroku 5)

**Uwaga:** W celu wyboru protokołu w aparacie QIAcube należy zapoznać się z kartami protokołów (<https://www.qiagen.com/us/qiacube/standard/search/>).

1. Za pomocą pipety przenieść 25 µl proteazy QIAGEN Protease (QP) do próbki do lizy (LT).


 Przeczytać część „Przygotowanie odczynników i buforów”, strona 23, aby uzyskać informacje o zawieszaniu proteazy QIAGEN Protease (QP) w rozpuszczalniku proteazy (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 nośnika RNA). Zamknąć zatyczkę i wytrząsać pulsacyjnie przez  $\geq 15$  s.

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 buforu Buffer AL.

4. Inkubować w temperaturze  $56^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  przez 15 min  $\pm 1$  min w bloku grzewczym.

5. Krótko odwirować próbkę do lizy (LT) w celu usunięcia kropli z wnętrza wieczka.

**Uwaga:** Jeśli wykonywano lizę ręczną poza aparatem (kroki 1–5), możliwe jest wykonanie kolejnych kroków (kroki 6–14) w zautomatyzowany sposób: protokół „Manual lysis protocol” (Protokół lizy ręcznej) w aparacie QIAcube lub QIAcube Connect MDx lub protokół „Large Plasma samples\_Manual lysis protocol” (Duże próbki osocza\_protokół lizy ręcznej) w aparacie QIAcube.

6. Dodać 250 µl etanolu (96–100%) do próbki, zamknąć wieczko i dokładnie wymieszać, wytrząsając pulsacyjnie przez  $\geq 15$  s. Inkubować lizat z etanolem przez 5 minut  $\pm 30$  sekund w temperaturze pokojowej (15–25°C).



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



7. Odwirować krótko próbkę w celu usunięcia kropli z wewnętrznej części 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 min. Umieścić kolumnę QIAamp MinElute w czystej próbówce do płukania (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  $\geq 1$  min. 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 min. 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 min. Wyrzucić próbkę 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 probówki 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. Odwirowywać przy pełnej prędkości (około 20 000 x g) przez 3 min  $\pm$ 30 s 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  $\pm$ 3°C przez 3 min  $\pm$ 30 s 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  $\mu$ l buforu Buffer AVE na środek membrany. Zamknąć wieczko i inkubować w temperaturze pokojowej przez 5 min. Odwirowywać przy pełnej prędkości (około 20 000 x g) przez >1 min.

-  W przypadku stosowania dowolnej procedury zautomatyzowanej należy wyjąć eluaty bezpośrednio z aparatu po zakończonym cyklu i odpowiednio je przechowywać.
-  Upewnić się, że bufor do elucji jest doprowadzony do temperatury pokojowej. Jeśli elucja jest przeprowadzana w małych objętościach (<50  $\mu$ l), 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  $\mu$ l 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 procedur analitycznych. 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.

# Symbole

Poniższe symbole mogą znajdować się w instrukcji użycia lub na opakowaniu i etykietach:

Symbol	Definicja symbolu
 $\Sigma$ <N>	Zawiera odczynniki wystarczające do wykonania <N> reakcji
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Data ważności
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Numer katalogowy
	Ważna informacja
	Numer serii
	Numer materiału (tj. oznaczenie składnika)
	Składniki
	Objętość
	Zakres temperatury
	Producent
	Po otrzymaniu



Symbol	Definicja symbolu
	Otworzyć w momencie dostawy; kolumny QIAamp MinElute przechowywać w temperaturze 2–8°C
	Po dodaniu etanolu do butelki zapisać bieżącą datę
<b>ADD</b>	Dodawanie
<b>CONT</b>	Zawiera
<b>LYOPH</b>	Liofilizowane
<b>RCNS</b>	Rekonstruować w
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>GuHCl</b>	Chlorowodorek guanidyny
<b>MALEIC ACID</b>	Kwas maleinowy
<b>SUBT</b>	Subtylizyna
<b>GTIN</b>	Globalny numer jednostki handlowej
→	Prowadzi do
<b>NUM</b>	Liczba
Rn	R oznacza wydanie instrukcji użycia, a n to numer wydania
	Chronić przed światłem słonecznym
	Ostrzeżenie/przestroga

---

## Informacje kontaktowe

W celu uzyskania pomocy technicznej lub szczegółowych informacji należy odwiedzić witrynę naszego Centrum pomocy technicznej pod adresem **[www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support)** (w celu uzyskania danych kontaktowych należy odwiedzić stronę **[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)**).

# 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 36). 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 (safety data sheet, 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°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). Elementy szklane przykryć 0,1-procentowym DEPC w wodzie przez 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.



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 napełnić roztworem 3-procentowego nadtlenu wodoru\*. Po 10 minutach w temperaturze pokojowej zbiorniki do elektroforezy należy dokładnie wypłukać wodą pozbawioną RNaz.

## 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 CO<sub>2</sub>. Podczas przygotowania buforów Tris należy najpierw poddać wodę działaniu DEPC, a następnie rozpuścić Tris w celu sporządzenia odpowiedniego buforu.

\* Podczas pracy z substancjami 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.

† Zawiera azydek sodu jako środek konserwujący.

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.

# Informacje dotyczące zamawiania

<b>Produkt</b>	<b>Zawartość</b>	<b>Nr kat.</b>
QIAamp DSP Virus Spin Kit (50)	Na 50 przygotowań: kolumny QIAamp Mini Spin Columns, bufory, odczynniki, probówki, łączniki VacConnector	61704
<b>Produkty pokrewne</b>		
QIAcube Connect MDx*	Aparat i 1 rok gwarancji na części i robociznę	9003070
<b>Akcesoria</b>		
Rotor Adapters	Na 240 przygotowań: 240 jednorazowych adapterów rotora i 240 probówek do elucji (1,5 ml); do użytku z aparatem QIAcube	990394
Rotor Adapter Holder	Uchwyt na 12 jednorazowych adapterów rotora; do użytku z aparatem QIAcube	990392
Sample Tubes CB	1000 probówek stożkowych z nakrętką bez stożkowego dna w kołnierzu przedłużającym (2 ml) do użytku z aparatami QIAcube i QIAcube Connect	990382
Shaker Rack Plugs	Do ładowania statywu wytrząsarki aparatu QIAcube	9017854
Reagent Bottles, 30 ml	Butelki na odczynniki (30 ml) z wieczkami; pakiet po 6; do użytku z aparatem QIAcube	990393

<b>Produkt</b>	<b>Zawartość</b>	<b>Nr kat.</b>
Filter-Tips, 1000 µl	Jednorazowe końcówki z filtrem, na statywie; (8 x 128). Do użytku z aparatem QIAcube	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore	Jednorazowe końcówki z filtrem, z dużym otworem wylotowym, na statywie; (8 x 128); niewymagane do wszystkich protokołów. Do użytku z aparatem QIAcube	990452
Filter-Tips, 200 µl	Jednorazowe końcówki z filtrem, na statywie; (8 x 128). Do użytku z aparatami QIAcube i QIASymphony SP/AS	990332

\* Aparat QIAcube Connect MDx jest niedostępny w niektórych krajach. W celu uzyskania dalszych informacji należy skontaktować się z serwisem technicznym firmy QIAGEN.

Aktualne informacje licencyjne oraz dotyczące wyłączenia odpowiedzialności dla poszczególnych produktów znajdują się w odpowiedniej instrukcji obsługi lub podręczniku użytkownika zestawu QIAGEN. Instrukcje obsługi i podręczniki użytkownika zestawu QIAGEN są dostępne pod adresem [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Można je także zamówić w serwisie technicznym lub u lokalnego dystrybutora firmy QIAGEN.

## Historia zmian dokumentu

Wersja	Opis
R7, 01/2021	<p>Zaktualizowano następujące części: „Zautomatyzowane oczyszczanie wirusowego kwasu nukleinowego w aparacie QIAcube lub QIAcube Connect MDx”, „Materiały wymagane, ale niedostarczone”, „Ostrzeżenia i środki ostrożności”, „Protokół: Oczyszczanie wirusowych kwasów nukleinowych z osocza lub surowicy przy użyciu mikrowirówki lub aparatu QIAcube/QIAcube Connect MDx”, „Symbole” i „Informacje dotyczące zamawiania”.</p> <p>Usunięto części „Parametry skuteczności” i „Piśmiennictwo”.</p> <p>Dodano nową rycinę (zdjęcie aparatu QIAcube Connect MDx).</p> <p>Dodano odnośniki do aparatu QIAcube Connect MDx i akcesoriów do tego aparatu.</p> <p>Wprowadzono poprawki redakcyjne oraz zmieniono układ.</p>



#### Umowa ograniczonej licencji dla zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit

Korzystanie z tego produktu oznacza zgodę nabywcy lub użytkownika produktu na następujące warunki:

1. Niniejszy produkt może być używany wyłącznie zgodnie z protokołami dołączonymi do produktu oraz niniejszą instrukcją obsługi i wyłącznie ze składnikami wchodzącymi w skład tego panelu. Firma QIAGEN nie udziela żadnej licencji w zakresie praw własności intelektualnej do użytkowania niniejszego panelu ze składnikami nienależącymi do panelu, z wyjątkiem przypadków opisanych w protokołach dołączonych do produktu, niniejszej instrukcji obsługi oraz dodatkowych protokołach dostępnych na stronie [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Niektóre dodatkowe protokoły zostały sformułowane przez użytkowników rozwiązań QIAGEN z myślą o innych użytkownikach rozwiązań QIAGEN. Takie protokoły nie zostały dokładnie przetestowane ani poddane procesowi optymalizacji przez firmę QIAGEN. Firma QIAGEN nie gwarantuje, że nie naruszają one praw osób trzecich.
2. Firma QIAGEN nie gwarantuje, że niniejszy panel i/lub jego użytkowanie nie narusza praw osób trzecich. Wyjątek stanowią jedynie wyraźnie określone licencje.
3. Panel oraz jego składniki są na mocy licencji przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku i nie można ich ponownie używać, regenerować lub sprzedawać.
4. Firma QIAGEN nie udziela żadnych innych licencji, wyrażonych ani dorozumianych, poza tymi, które są wyraźnie określone.
5. Nabywca i użytkownik panelu 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 wyegzekwować przestrzeganie zakazów niniejszej Umowy ograniczonej licencji i wnieść sprawę do dowolnego sądu. Ma także prawo zażądać zwrotu kosztów wszelkich postępowań i kosztów sądowych, w tym wynagrodzeń prawników, związanych z egzekwowaniem postanowień Umowy ograniczonej licencji lub wszelkich praw własności intelektualnej w odniesieniu do zestawu i/lub jego składników.

Aktualne warunki licencyjne są dostępne na stronie [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Znaki towarowe: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, MinElute® (QIAGEN Group); Corex® (Corning, Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.). Zastrzeżonych nazw, znaków towarowych itd. wykorzystywanych w niniejszym dokumencie, nawet jeżeli nie zostały oznaczone jako zastrzeżone, nie można uważać za niechronione przepisami prawa.

01/ 2021 HB-0417-007 1122785 © 2021 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.

---

Składanie zamówień [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Pomoc techniczna [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) |  
Strona [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)