



Haziran 2022

QIAamp[®] DSP Virus Spin Kit Kullanım Talimatları (El Kitabı)



Versiyon 2



İn Vitro Tanı Amaçlı Kullanım İçindir

QIAamp[®] DSP Virus Spin Kit ile kullanım içindir



61704



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Almanya



1127542TR

İçerik

Kullanım Amacı	4
Planlanmış Kullanıcılar	4
Açıklama ve İlke	5
QIAGEN Protease (QP) ile lizis	5
QIAamp MinElute membranının yüzeyine tutunma	5
Kalan kontaminantları giderme	6
Viral nükleik asitlerin elüsyonu	6
Viral nükleik asitlerin verimi ve kalitesi	7
Dahili kontrollerin eklenmesi	7
QIAcube Connect MDx'te otomatik viral nükleik asit saflaştırma	8
Özet ve açıklama	11
Sağlanan Materyaller	12
Kit içeriği	12
Kit bileşenleri	13
Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Materyaller	14
Ek reaktifler	14
Sarf malzemeleri	14
Ekipman	14
Yalnızca otomatik prosedür için	14
Uyarılar ve Önlemler	16
Güvenlik bilgileri	16
Acil durum bilgileri	17

Önlemler.....	18
İmha	19
Reaktif Saklama ve Kullanma.....	20
Kullanımda stabilite	20
Numune Alma, Saklama ve Kullanma	22
Önemli Notlar	24
Başlamadan önce önemli noktalar	24
QIAamp MinElute kolonlarının kullanılması.....	25
Santrifügasyon	25
QIAamp MinElute kolonların bir mikrosantrifüjde işlenmesi.....	25
Reaktifleri ve tamponları hazırlama.....	26
Protokol: Mikrosantrifüj veya QIAcube Connect MDx kullanarak plazma veya serumdan viral nükleik asitlerin saflaştırılması	31
Kalite Kontrol	35
Sınırlamalar	36
Performans Özellikleri	37
Sorun Giderme Kılavuzu	38
Semboller	42
Ek	45
Sipariş Bilgileri.....	46
Belge Revizyon Geçmişi.....	48

Kullanım Amacı

QIAamp® DSP Virus Spin Kit, insan plazma ve serum örneklerinden viral nükleik asitlerin manuel izolasyonu ve saflaştırılmasına ya da QIAcube® Connect MDx cihazı ile birlikte kullanıldığında otomatik izolasyonu ve saflaştırılmasına yöneliktir.

QIAamp DSP Virus Spin Kit, insan plazma ve serum örneklerinden viral nükleik asitlerin izolasyonu ve saflaştırılması amacıyla silika-membran teknolojisini (QIAamp teknolojisi) kullanır.

Ürünün, in vitro tanı amaçlı olarak ve moleküler biyoloji teknikleri konusunda eğitim almış teknisyenler ve doktorlar gibi profesyonel kullanıcılar tarafından kullanılması amaçlanmıştır.

Planlanmış Kullanıcılar

Ürünün, moleküler biyoloji teknikleri konusunda eğitim almış teknisyenler ve doktorlar gibi profesyonel kullanıcılar tarafından kullanılması amaçlanmıştır.

Açıklama ve İlke

QIAamp DSP Virus Spin prosedürü 4 adımdan (lizis, bağlama, yıkama ve elüsyon) oluşur ve standart bir mikrosantrifüjde QIAamp MinElute® kolonları kullanılarak veya QIAcube Connect MDx'te otomatik olarak gerçekleştirilir. Prosedür, örnekten örneğe çapraz kontaminasyon potansiyelini en aza indirmek üzere tasarlanmıştır ve potansiyel olarak enfeksiyöz örneklerin güvenli şekilde işlenmesini sağlar. Kolay QIAamp DSP Virus Spin prosedürü, birden fazla örneğin eş zamanlı işlenmesi için uygundur. QIAamp DSP Virus Spin Kit, çok çeşitli RNA ve DNA virüslerinden viral RNA ve DNA izolasyonu için kullanılabilir. Ancak, her virüs türü için performans özellikleri belirlenmemiştir ve kullanıcı tarafından doğrulanması gerekir.

QIAGEN Protease (QP) ile lizis

Örnekler, yüksek sıcaklıklarda, yüksek düzeyde denatüran koşullar altında parçalanır. Lizis, bir araya geldiğinde RNazların inaktivasyonunu sağlayan QIAGEN Protease (QP) ve Lizis Tamponu (AL) varlığında gerçekleştirilir.

QIAamp MinElute membranının yüzeyine tutunma

Viral RNA ve DNA'nın membrana optimum şekilde bağlanmasını sağlamak için etanol eklenerek bağlama koşulları ayarlanır. Daha sonra lizatlar QIAamp MinElute kolonuna aktarılır ve lizat santrifügasyon ile çekilirken viral nükleik asitler silika jel membranın yüzeyine tutunur. Tuz ve pH koşulları, PCR'yi ve diğer aşağı akışlı enzimatik reaksiyonları inhibe edebilecek protein ve diğer kontaminantların QIAamp MinElute membranında tutulmamasını sağlar.

2 ml'lik yıkama tüpleri (WT) (birlikte verilir) yükleme ve yıkama adımları sırasında QIAamp MinElute kolonunu tamamlar.

Kalan kontaminantları giderme

Nükleik asitler membrana bağlı kalırken, kontaminantlar 3 yıkama adımı sırasında etkili bir şekilde yıkanarak uzaklaştırılır.

Viral nükleik asitlerin elüsyonu

Tek bir adımda, yüksek saflıkta viral RNA ve DNA, Elüsyon Tamponunda (AVE) QIAamp MinElute kolon membranından elüe edilerek oda sıcaklığına dengelenir. QIAamp MinElute kolonları, manuel prosedürde yalnızca 20 µl ve otomatik prosedürde 60 µl minimum elüsyon hacimlerine olanak sağlar. Düşük elüsyon hacmi, yüksek düzeyde konsantre nükleik asit elüatlarına yol açar.

Küçük başlangıç hacimleri gerektiren aşağı akışlı uygulamalar (örn. bazı PCR ve RT-PCR tahlilleri) için daha konsantre bir elüat, tahlil duyarlılığını artırabilir.

Daha büyük bir başlangıç hacmi gerektiren aşağı akışlı uygulamalar için elüsyon hacmi manuel prosedürde 150 µl'ye ve otomatik prosedürde 100 µl'ye kadar artırılabilir. Bununla birlikte, elüsyon hacmindeki bir artış, elüattaki nükleik asitlerin konsantrasyonunu azaltır.

Santrifüjleme sonrasında döndürme kolonu membranı tarafından tutulan kalan elüsyon tamponu nedeniyle, geri kazanılan elüat hacmi, kolona uygulanan elüsyon tamponu hacminden düşük olabilir. Ayrıca, geri kazanılan elüatın hacmi, örneğin niteliğine bağlıdır.

Elüsyona tabi tutulan nükleik asit, 1,5 ml'lik elüsyon tüplerinde (elution tube, ET; birlikte verilir) toplanır ve 24 saate kadar 2–8°C'de saklanabilir. 24 saat üzerinde uzun dönemli saklama için saflaştırılmış nükleik asitlerin –20°C'de saklanması önerilir.

Not: Elüat stabilitesi büyük ölçüde çeşitli faktörlere bağlıdır ve spesifik aşağı akışlı uygulama ile ilgilidir. Stabilité, örnek niteliğindeki aşağı akışlı uygulamalar ile birlikte QIAamp DSP Virus Spin Kit için değerlendirilmiştir. Laboratuvarında kullanılan spesifik aşağı akışlı uygulamanın kullanım talimatlarına başvurmak ve/veya uygun saklama koşullarını belirlemek için iş akışının tamamını doğrulamak kullanıcının sorumluluğundadır.

Viral nükleik asitlerin verimi ve kalitesi

Biyolojik örneklerden izole edilen viral nükleik asit verimleri normalde 1 µg'nin altındadır. Verimlerin belirlenmesi için kantitatif amplifikasyon yöntemleri önerilir. QIAamp DSP Virus Spin protokolü kullanılarak izole edilen nükleik asitlerin kantifikasyonu sırasında, örnekte viral RNA'dan büyük ölçüde daha fazla taşıyıcı RNA olacağını unutmayın.

Taşıyıcı RNA iki amaca hizmet eder: İlk olarak, özellikle örnekte çok az hedef molekül bulunuyorsa viral nükleik asitlerin QIAamp membranına bağlanmasını sağlar. İkinci olarak, yüksek miktarda taşıyıcı RNA eklenmesi, RNaz moleküllerinin Lizis Tamponu (AL) içinde bulunan kaotropik tuzlar ve deterjan tarafından denatürasyondan kaçtığı nadir durumlarda, viral RNA bozunması olasılığını azaltır. Taşıyıcı RNA Lizis Tamponuna (AL) eklenmezse bu durum viral RNA veya DNA geri kazanımında azalmaya yol açabilir.

Piyasada bulunan aşağı akışlı tahlillerin bazı dahili kontrol reaktiflerine de taşıyıcı RNA eklenebilir. Bu durumlarda lütfen aşağı akışlı tahlil üreticisinin ilgili kullanım talimatlarına bakın.

Farklı amplifikasyon sistemlerinin etkinliği, reaksiyonda bulunan toplam nükleik asit miktarına bağlı olarak farklılık gösterir. Bu kitte bulunan elüatlar, viral nükleik asitler ve taşıyıcı RNA içerir ve taşıyıcı RNA miktarları, viral nükleik asitlerin miktarını büyük ölçüde aşar. Bu nedenle, aşağı akışlı amplifikasyonlara ne kadar elüat ekleneceğine dair hesaplamalarda, eklenen taşıyıcı RNA miktarı dikkate alınmalıdır. Amplifikasyon reaksiyonlarında en yüksek duyarlılık seviyelerini elde etmek için Lizis Tamponuna (AL) eklenen taşıyıcı RNA miktarını ayarlamak gerekli olabilir.

Dahili kontrollerin eklenmesi

QIAamp DSP Virus Spin protokolünün piyasada bulunabilen amplifikasyon sistemleri ile birlikte kullanımı, saflaştırma prosedürüne bir dahili kontrol konmasını gerektirebilir. Dahili kontrol RNA veya DNA, taşıyıcı RNA ile birlikte lizis tamponuna eklenmelidir. Daha küçük

moleküller etkili şekilde geri kazanılmadığından, optimum saflaştırma etkinliği için dahili kontrol molekülleri 200 nükleotidden daha uzun olmamalıdır.

Optimum konsantrasyonu belirlemek için üreticinin talimatlarına bakın. Önerilenden farklı bir konsantrasyon kullanılması, amplifikasyon etkinliğini azaltabilir.

QIAcube Connect MDx'te otomatik viral nükleik asit saflaştırma

QIAcube Connect MDx, nükleik asitler için otomatik izolasyon ve saflaştırma gerçekleştirir. Tek bir çalışmada en fazla 12 örnek işleyebilir.

QIAamp DSP Virus Spin Kit'i QIAcube Connect MDx üzerinde otomatik hale getirmeniz durumunda cihaz; ölü hacimler, buharlaşma ve otomatik pipetleme kaynaklı ilave reaktif tüketimi nedeniyle 50'nin altında örnek işleyebilir. QIAGEN, QIAamp DSP Virus Spin Kit'in manuel kullanımı ile yalnızca 50 örnek hazırlanabileceğini garanti eder.



Şekil 1. QIAcube Connect MDx.

QIAamp DSP Virus Spin Prosedürü

Örnek



Parçalama



Bağlama



Yıkama
(Yıkama Tamponu 1
(AW1))



Yıkama
(Yıkama Tamponu 2
(AW2))



Yıkama
(etanol)



Döndürerek
kurutma
(yeni toplama
tüpü kullanın)



Elüsyon



Saf viral nükleik asit

QIAcube Connect MDx üzerinde otomatik hale getirilebilir

Özet ve açıklama

QIAamp DSP Virus Spin Kit, viral DNA ve RNA'nın eş zamanlı saflaştırılması için iyi yapılandırılmış bir teknoloji kullanır. Kite, manuel iş akışında silika tabanlı membranın seçici bağlama özellikleri ile 20 ile 150 µl arasındaki esnek elüsyon hacimleri bir araya getirilir.

Prosedür, plazma ve serum ile kullanıma uygundur; her ikisi de sitrat veya EDTA içerebilir. Örnekler, taze ya da birden fazla kez dondurulup çözündürülmemiş olmak kaydıyla dondurulmuş olabilir.

Prosedür, çok çeşitli RNA ve DNA virüslerinden viral RNA ve DNA izolasyonu için kullanılabilir. Kolay QIAamp DSP döndürme prosedürleri, birden fazla örneğin eş zamanlı işlenmesi için uygundur. Prosedür, 5 µl'lik artışlarla 60–100 µl elüsyon hacimleri ile daha fazla standardizasyon ve kullanım kolaylığı sağlamak adına, QIAcube Connect MDx'te tamamen otomatik hale getirilebilir (sayfa 9). Prosedür, örnekten örneğe çapraz kontaminasyonu önlemek ve potansiyel olarak enfeksiyöz örneklerin güvenli şekilde işlenmesini sağlamak üzere tasarlanmıştır. Viral nükleik asitler Elüsyon Tamponu (AVE) içinde elüsyona tabi tutularak, amplifikasyon reaksiyonlarında (PCR) kullanıma veya daha sonra kullanmak üzere –20°C'de saklamaya hazır hale getirilir.

Sağlanan Materyaller

Kit içeriği


QIAamp DSP Virus Spin Kit

Katalog no.

61704

Hazırlama sayısı

50[§]

QIAamp MinElute	QIAamp MinElute columns with Wash tube (WT)s (2 ml) (Yıkama tüpleri (WT) (2 ml) ile QIAamp MinElute kolonları)	COL	50
LT	Lysis Tubes (Lizis Tüpleri) (2 ml)	LYS TUBE	50
ET	Elution Tubes (Elüsyon Tüpleri) (1,5 ml)	ELU TUBE	50
WT	Wash tubes (WT) (Yıkama tüpleri (WT)) (2 ml)	WASH TUBE	5 x 50
AL	Lysis Buffer (Lizis Tamponu)*	LYS BUF	33 ml
AW1	Wash Buffer 1 (AW1) (Yıkama Tamponu 1 (AW1))* (konsantre)	WASH BUF 1 CONC	19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (AW2) (Yıkama Tamponu 2 (AW2))* (konsantre)	WASH BUF 2 CONC	13 ml
AVE	Elution Buffer (Elüsyon Tamponu)† (mor kapaklı)	ELU BUF	4 x 2 ml
PS	Protease Solvent (Proteaz Solvent)†	QPROT SOLV	4,4 ml
Carrier	Carrier RNA (Taşıyıcı RNA) (kırmızı kapaklı)	CAR RNA	310 µg
QP	QIAGEN Protease (QIAGEN Proteaz) (QP)‡	QPROT	1 şişe
–	Kullanım Talimatları (El Kitabı)		1

* Bir kaotropik tuz içerir. Kullanırken uygun güvenlik önlemlerini alın ve eldiven takın. Çamaşır suyu içeren dezenfektanlarla uyumlu değildir. Daha fazla bilgi için bkz. sayfa 16.

† Koriyucu madde olarak sodyum azid içerir.

‡ Bkz. "Reaktifleri ve tamponları hazırlama", sayfa 26.

§ QIAamp DSP Virus Spin Kit'i QIAcube Connect MDx cihazında otomatik hale getirmeniz durumunda cihaz; ölü hacimler, buharlaşma ve otomatik pipetleme kaynaklı ilave reaktif tüketimi nedeniyle 50'nin altında örnek işleyebilir. QIAGEN, QIAamp DSP Virus Spin Kit'in manuel kullanımı ile yalnızca 50 örnek hazırlanabileceğini garanti eder.

Kit bileşenleri

Aktif bileşenler dahil olmak üzere kitin ana bileşenleri aşağıda açıklanmaktadır.

Reaktif	Aktif bileşenler	Konsantrasyon (a/a) [%]
QIAGEN Protease (QP)	Subtilizin	≥ 90 ila ≤ 100
AL	Guanidin hidroklorür Maleik asit	≥ 30 ila < 50 ≥ 0,1 ila < 1
AW1	Guanidin hidroklorür	≥50 ila < 70

Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Materyaller

Ek reaktifler

- Etanol (%96–100)*

Sarf malzemeleri

- Pipetler† ve pipet uçları (çapraz kontaminasyonu önlemek için aerosol bariyerli pipet uçlarının kullanımını önemle tavsiye ederiz)
- Tek kullanımlık eldiven

Ekipman

- Örneklerin 56°C'de lizisi için ısıtma bloğu†
- Mikrosantrifüj† (1,5 ml ve 2 ml'lik tüpler için rotorlu)
- Dereceli silindir (50 ml)
- Vorteksleyici
- <200 µl örnekler için: %0,9 NaCl solüsyonu

Yalnızca otomatik prosedür için

- QIAcube Connect MDx† (kat. no. 9003070)
- Rotor Adapters (kat. no. 990394)
- Rotor Adapter Holder (kat. no. 990392)
- Sample Tubes CB (2 ml, kat. no. 990382, örnek giriş tüpü)
- Shaker Rack Plugs (kat. no. 9017854)
- Reagent Bottles, 30 ml (kat. no. 990393)
- Filter-Tips, 1000 µl (kat. no. 990352)

* Metanol veya metiletilketon gibi başka maddeler içeren denatüre alkol kullanmayın.

† Kullanım öncesinde cihazların üreticinin önerilerine göre kontrol edildiğinden ve kalibre edildiğinden emin olun.

- Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore (kat. no. 990452)
- Filter-Tips, 200 µl (kat. no. 990332)
- SafeSeal Tube, 1.5 ml, Sarstedt® (kat. no. 72.706)

Uyarılar ve Önlemler

Cihazla ilgili olarak meydana gelen ciddi olayları üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve kullanıcının ve/veya hastanın bulunduğu ülkenin düzenleyici makamına rapor etmek için yerel düzenlemelerinize başvurmanız gerekebileceğini lütfen dikkate alın.

İn Vitro Tanı Amaçlı Kullanım İçindir.

Kiti kullanmadan önce tüm talimatları dikkatle okuyun.

Güvenlik bilgileri

Kimyasallar ile çalışırken, her zaman uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için lütfen uygun güvenlik veri sayfalarına (Safety Data Sheets, SDS'ler) başvurun. Bunlar, her bir QIAGEN kiti ve kit bileşenine ait SDS'yi bulabileceğiniz, görüntüleyebileceğiniz ve yazdırabileceğiniz www.qiagen.com/safety adresinde çevrimiçi olarak kullanışlı ve kompakt PDF formatında mevcuttur.



DİKKAT: Örnek hazırlama atığına doğrudan çamaşır suyu veya asidik solüsyonlar EKLEMEYİN.

- Lizis Tamponu (AL) ve Yıkama Tamponu 1 (AW1), çamaşır suyu ile birleştiğinde yüksek derecede reaktif bileşikler oluşturabilen guanidin hidroklorür içermektedir. Eğer bu tamponları içeren sıvı dökülürse uygun laboratuvar deterjanı ve suyla temizleyin. Dökülen sıvı enfeksiyöz olabilecek ajanlar içeriyorsa etkilenmiş bölgeyi önce laboratuvar deterjanı ve suyla ve sonrasında %1 (h/h) sodyum hipoklorit ile temizleyin.
- Tampon şişeleri hasarlı veya sızdırıyorsa kendinizin veya başkalarının yaralanmasını önlemek adına şişeleri atarken eldiven ve koruyucu gözlük kullanın.

- QIAGEN, QIAamp DSP Virus Spin prosedürlerinde oluşan sıvı atığı kalıntı enfeksiyöz materyaller bakımından test etmemiştir. Sıvı atığın kalıntı enfeksiyöz materyaller ile kontamine olma ihtimali oldukça düşük olsa da tamamen göz ardı edilemez. Bu nedenle, sıvı atığın enfeksiyöz olduğu kabul edilmeli ve sıvı atık, yerel güvenlik düzenlemeleri doğrultusunda atılmalıdır.
- Numuneler ve örnekler potansiyel olarak enfeksiyözdür. Örneği ve tahlil atıklarını, yerel güvenlik prosedürlerinize uygun olarak imha edin.

Acil durum bilgileri

CHEMTREC

ABD ve Kanada 1-800-424-9300

ABD ve Kanada Dışı +1 703-527-3887

Önlemler

QIAamp DSP Virus Spin Kit bileşenleri için aşağıdaki tehlike ve önlem ifadeleri geçerlidir:

Lysis Buffer (AL)



İçerik: guanidin hidroklorür; maleik asit. Uyarı! Yutulursa veya solunursa zararlı olabilir. Cilt tahrişine neden olur. Alerjik cilt reaksiyonuna neden olabilir. Ciddi göz tahrişine neden olur. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın. Kendinizi iyi hissetmezseniz bir ZEHİR MERKEZİ veya doktoru arayın. Ciltte tahriş veya kaşıntı olursa: Tıbbi tavsiye/yardım alın. Kontamine giysileri çıkarın ve tekrar kullanmadan önce yıkayın. İçeriği/kabı onaylı bir atık imha tesisine atın.

Wash Buffer 1 (AW1)



Guanidin hidroklorür içerir. Uyarı! Yutulursa veya solunursa zararlıdır. Cilt tahrişine neden olur. Ciddi göz tahrişine neden olur. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın. Kontamine giysileri çıkarın ve tekrar kullanmadan önce yıkayın. İçeriği/kabı onaylı bir atık imha tesisine atın.

QIAGEN Protease (QP)



Subtilizin içerir. Tehlike! Yutulursa zararlıdır. Cilt tahrişine neden olur. Ciddi göz hasarına neden olur. Solunursa alerji veya astım belirtileri ya da solunum zorluklarına neden olabilir. Solunum yollarında tahriş neden olabilir. Tozu/ buğuyu/ gazı/dumanı/buharı/spreyi solumaktan kaçının. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın. Solunum koruması kullanın. GÖZE KAÇMIŞSA: Birkaç dakika suyla iyice durulayın. Eğer varsa ve çıkarması kolaysa kontak lensleri çıkarın. Durulamaya devam edin. Maruz kalınması veya endişelenilmesi DURUMUNDA: Hemen bir ZEHİR MERKEZİNİ veya doktoru/hekimi arayın. Kişiyi temiz havaya çıkarın ve solunum için rahat bir pozisyonda tutun.

İmha

Atık içinde örnekler ve reaktifler bulunmaktadır. Bu atık, toksik veya enfeksiyöz materyaller içerebilir ve uygun şekilde imha edilmelidir. Uygun imha prosedürleri için yerel güvenlik düzenlemelerinize başvurun.

Daha fazla bilgi için lütfen uygun güvenlik veri sayfalarına (Safety Data Sheets, SDS'ler) başvurun. Bunlar, her bir QIAGEN kiti ve kit bileşenine ait SDS'yi bulabileceğiniz, görüntüleyebileceğiniz ve yazdırabileceğiniz www.qiagen.com/safety adresinde çevrimiçi olarak PDF formatında mevcuttur.

Reaktif Saklama ve Kullanma

Tüm bileşenlerin kutusunda ve etiketlerinin üstünde yazılı olan son kullanma tarihlerine ve saklama koşullarına dikkat edilmelidir. Süresi dolmuş veya hatalı saklanmış bileşenleri kullanmayın.

QIAamp MinElute kolonları teslim alındıktan sonra 2–8°C'de saklanmalıdır. Uygun şekilde saklandığında QIAamp MinElute kolonları, kit kutusundaki son kullanma tarihine kadar stabildir.

Not: Farklı kitlerden kit bileşenlerinin karışmadığından emin olmak için lütfen QIAamp MinElute kolonlarını ilgili kit lotu numarasıyla etiketleyin.

Tüm tamponlar, kit kutusunda yer alan son kullanma tarihine kadar oda sıcaklığında (15–25°C) saklanabilir.

Liyofilize taşıyıcı RNA, kit kutusunda yer alan son kullanma tarihine kadar oda sıcaklığında saklanabilir.

Liyofilize QIAGEN Protease (QP), performans etkilenmeden kitin son kullanma tarihine kadar oda sıcaklığında saklanabilir.

Kullanımda stabilite

Taşıyıcı RNA yalnızca Elüsyon Tamponu (AVE) içinde çözünebilir; manuel prosedür için, çözünmüş taşıyıcı RNA, sayfa 27'de açıklandığı şekilde hemen Lizis Tamponuna (AL) eklenmelidir. Bu solüsyon taze olarak hazırlanmalıdır ve 2–8°C'de 48 saate kadar stabildir. Elüsyon Tamponu (AVE) içinde çözünen taşıyıcı RNA'nın kullanılmayan bölümleri, –20°C'de alikotlar halinde dondurulmalıdır.

Proteaz Solvent (PS) içinde sulandırılan QIAGEN Protease (QP), en geç kitin son kullanma tarihine kadar olmak üzere, 2–8°C'de saklandığında bir yıla kadar stabildir. QIAGEN Protease (QP) stok solüsyonunu oda sıcaklığında uzun süre saklamaktan kaçınılmalıdır.

Sulandırılan Yıkama Tamponu 1 (AW1) ve sulandırılan Yıkama Tamponu 2 (AW2), en geç kit kutusunun üzerindeki son kullanma tarihine kadar olmak üzere, oda sıcaklığında saklandığında 1 yıla kadar stabildir. Otomatik prosedür için tamponların hazırlanması ile ilgili olarak, *QIAcube Connect MDx Kullanım Kılavuzu* belgesinde yer alan talimatları izleyin.

Numune Alma, Saklama ve Kullanma

Not: Örnek stabilitesi büyük ölçüde çeşitli faktörlere bağlıdır ve spesifik aşağı akışlı uygulama ile ilgilidir. Stabilite, örnek niteliğindeki aşağı akışlı uygulamalar ile birlikte değerlendirilmiştir. Laboratuvarında kullanılan spesifik aşağı akışlı uygulamanın kullanım talimatlarına başvurmak ve/veya uygun saklama koşullarını belirlemek için iş akışının tamamını doğrulamak kullanıcının sorumluluğundadır.

Genel alma, taşıma ve saklama önerileri için onaylanmış CLSI yönergesi MM13-A "Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods" (Moleküler Yöntemler İçin Numunelerin Alınması, Taşınması, Hazırlanması ve Saklanması) belgesine bakın. Ayrıca örnek hazırlama, saklama, taşıma ve genel kullanım sırasında, seçilen örnek toplama cihazına ilişkin üretici talimatları da izlenmelidir.

Saflaştırma prosedürü, insan plazma ve serum örnekleriyle kullanım için optimize edilmiştir. Antikoagülan olarak EDTA veya sitratla muamele edilmiş kan örnekleri plazma hazırlanması için kullanılabilir. Örnekler, taze ya da birden fazla kez dondurulup çözülmemiş olmak kaydıyla dondurulmuş olabilir. Donmuş örnekleri iyice karışmaları için hafifçe çalkalayarak çözün.

Toplama ve santrifügasyondan sonra plazma veya serum, 2–8°C'de 6 saate kadar saklanabilir. Uzun süreli saklama için –20°C ila –80°C'de alikotlar halinde dondurma önerilir. Donmuş plazma veya serum örnekleri birden fazla kez çözülmemelidir. Yenelenen dondurma-çözme, proteinlerin denatürasyon ve presipitasyonuna yol açar ve bu, viral titrelerde düşüşe ve dolayısıyla viral nükleik asit verimlerinde azalmaya neden olur. Ayrıca, dondurma-çözme sırasında oluşan kriyopresipitatlar QIAamp MinElute membranını tıkar. Kriyopresipitatlar görünüyorsa yaklaşık 6800 x g'de 3 dakika santrifüjleme ile pelletlenebilir. Temizlenen süpernatant çıkarılmalı ve pelleti bozmadan hemen işlenmelidir. Saflaştırma işlemini hemen başlatın. Düşük g-kuvvetlerinde santrifügasyon, viral titreleri düşürmez.

Not: QIAamp DSP Virus Spin Kit'e yönelik örnek niteliğindeki etkileşim çalışmalarına göre ve ISO 20186-2:2019(E) uyarınca, kan toplama tüplerinden heparin, izole edilmiş nükleik asitlerin saflığını etkileyebilir ve elüatlara olası taşınma, bazı aşığı akışlı uygulamalarda inhibisyonlara neden olabilir. Bu nedenle, antikoagölan olarak EDTA veya sitrat ile işlenmiş kan örneklerinin kullanılmasını öneririz.

Önemli Notlar

Başlamadan önce önemli noktalar

- Kiti aldıktan sonra kit bileşenlerini hasar bakımından kontrol edin. Kabarcıklı paketler veya tampon şişeleri hasar görmüşse QIAGEN Teknik Servisi veya yerel distribütörünüz ile iletişime geçin. Sıvı dökülmesi durumunda "Uyarılar ve Önlemler" bölümüne (sayfa 16) başvurun. Hasarlı kit bileşenlerinin kullanımı zayıf kit performansına yol açabileceğinden bunları kullanmayın.
- Her zaman RNaz içermeyen ekipman kullanın.
- Sıvı transferleri arasında daima pipet uçlarını değiştirin. Çapraz kontaminasyonu en aza indirmek adına aerosol bariyerli pipet uçlarının kullanılmasını öneririz.
- Her zaman tek kullanımlık eldiven kullanın ve eldivenin örnek materyal ile kontamine olmadığını kontrol edin. Kontamine olması halinde eldiveni atın.
- Çapraz kontaminasyonu en aza indirmek için tek seferde yalnız bir tüp açın.
- Tüm puls vorteksleme adımlarından sonra, kapağın iç kısmındaki damlaları gidermek için mikrosantrifüj tüplerini kısa bir süre santrifüjleyin.
- Tüm santrifüjleme adımları oda sıcaklığında (15–25°C) gerçekleştirilir.
- Kullanıcı, tüm prosedür boyunca örneklerin izlenebilirliğinin korunduğundan emin olmalıdır.
- Başka kitlere ait kit bileşenlerini, lot numaraları birbirine eşit değilse kullanmakta olduğunuz kitler ile birlikte kullanmayın.
- Kit reaktiflerinden kaynaklı mikrobiyal kontaminasyondan kaçının.
- Potansiyel olarak enfeksiyöz materyal kaynaklı enfeksiyondan kaçınmak için örnekler parçalanana kadar laminar hava akışına sahip koşullarda çalışmanızı öneririz.
- Otomasyon için, kullanıcı arayüzündeki (QIAcube Connect MDx) talimatları izleyin ve uygun kullanım kılavuzuna (QIAcube Connect MDx için) bakın.
- Bu kit yalnızca, in vitro tanı amaçlı laboratuvar uygulaması üzerine eğitim almış personel tarafından kullanılmalıdır.

QIAamp MinElute kolonlarının kullanılması

Nükleik asit amplifikasyonu teknolojilerinin duyarlılığı nedeniyle, QIAamp MinElute kolonları kullanılırken örnek hazırlıkları arasında çapraz kontaminasyondan kaçınmak için şu önlemler gereklidir:

- Örneği veya solüsyonu QIAamp MinElute kolonuna dikkatli bir şekilde uygulayın. Örneği, kolon kenarını ıslatmadan QIAamp MinElute kolonuna pipetleyin.
- Tüm sıvı transferleri arasında daima pipet uçlarını değiştirin. Aerosol bariyerli pipet uçlarının kullanılması önerilir.
- QIAamp MinElute membranına pipet ucuyla dokunmaktan kaçının.
- Her defasında yalnızca bir adet QIAamp MinElute kolonu açın ve aerosol oluşturmaktan kaçının.

Santrifügasyon

- Tüm santrifügasyon adımları için yıkama tüpleri (wash tube, WT) ve elüsyon tüpleri kitle birlikte verilmiştir.
- QIAamp MinElute kolonlarını santrifüjleme işlemi, santrifüj gürültüsünü azaltmak için yaklaşık 6000 x g'de gerçekleştirilir. QIAamp MinElute kolonlarının tam hızda santrifüjlenmesi, DNA veya RNA verimini etkilemez.
- Yıkama prosedürünün sonunda döndürerek kurutma ve elüsyon için tam hızda santrifügasyon gerçekleştirilmelidir.
- Tüm santrifügasyon adımları oda sıcaklığında (15-25°C) gerçekleştirilmelidir.

QIAamp MinElute kolonların bir mikrosantrifüjde işlenmesi

- QIAamp MinElute kolonunu mikrosantrifüje yerleştirmeden önce kapatın. Açıklanan şekilde santrifüjleyin.
- QIAamp MinElute kolonunu ve yıkama tüpünü (wash tube, WT) mikrosantrifüjden çıkarın.

- QIAamp MinElute kolonunu yeni bir yıkama tüpüne (wash tube, WT) yerleştirin. Süzüntüyü ve yıkama tüpünü (wash tube, WT) atın. Süzüntünün tehlikeli atıklar içerebileceğini ve uygun şekilde atılması gerektiğini lütfen unutmayın.
- Her defasında yalnızca bir adet QIAamp MinElute kolonu açın ve aerosol oluşturmaktan kaçının.

Birden fazla örneğin verimli şekilde paralel işlenmesi için santrifüjasyondan sonra QIAamp MinElute kolonlarının aktarılabilmesi amacıyla bir rafın yıkama tüpleriyle (wash tube, WT) doldurulmasını öneririz. Süzüntüyü içeren kullanılmış yıkama tüpleri (wash tube, WT) atılabilir ve QIAamp MinElute kolonlarını içeren yeni yıkama tüpleri (wash tube, WT) doğrudan mikrosantrifüje yerleştirilebilir.

Reaktifleri ve tamponları hazırlama

RNA hazırlama

Viral RNA hazırlanırken, prosedürün manuel adımları sırasında hızlı çalışın ve başlamadan önce sayfa 45'deki Ek bölümünü okuyun.

QIAGEN Protease (QP) hazırlama

Liyofilize QIAGEN Protease (QP) şişesine 4,4 ml Proteaz Solvent (PS) içeren şişenin tüm içeriğini ekleyip dikkatlice karıştırın. Köpürmeyi engellemek için şişeyi birkaç kez baş aşağı çevirerek karıştırın. QIAGEN Protease'ın (QP) tamamen çözüldüğünden emin olun.



QIAGEN Protease'ı (QP) doğrudan Lizis Tamponuna (AL) eklemeyin.*


* Kaotropik tuz içerir. Kullanırken uygun laboratuvar güvenlik önlemlerini alın ve eldiven takın. Çamaşır suyu içeren dezenfektanlarla uyumlu değildir. Güvenlik bilgileri için bkz. sayfa 16.

Lizis Tamponuna (AL)* taşıyıcı RNA ve dahili kontrol ekleme (yalnızca manuel prosedür için)

QIAamp DSP Virus Spin Kit, diagnostik amplifikasyon sistemleriyle birlikte kullanılırken dahili kontrol kullanılması önemle tavsiye edilir. Daha fazla bilgi için üreticinin talimatlarına bakın. Dahili kontrol ve sulandırılmış taşıyıcı RNA, Lizis Tamponuna (AL) eklenmeli ve tüp 10 kez baş aşağı çevrilerek nazikçe karıştırılmalıdır. Köpük oluşmasını önlemek için vortekslemeyin. Dahili kontrol kullanılıyorsa Lizis Tamponu (AL) hacmini buna göre azaltın (daha ayrıntılı bilgi için bkz. Tablo 1).

Dahili kontrolün optimum konsantrasyonunu belirlemek için üreticinin talimatlarına bakın. Önerilenden farklı bir konsantrasyon kullanılması hatalı sonuçlara yol açabilir. Kullanılacak doğru dahili kontrol miktarını hesaplarken, örneğin başlangıç hacmini ve elüsyon hacmini dikkate alın. QIAamp DSP Virus Spin Kit'in 200 µl başlangıç örnek hacmi kullandığını unutmayın.

Taşıyıcı RNA solüsyonunu hazırlamak için, 1 µg/µl'lik bir solüsyon elde etmek üzere, 310 µg liyofilize taşıyıcı RNA içeren tüpe 310 µl Elüsyon Tamponu (AVE) ekleyin. Taşıyıcı RNA'yı tamamen çözün, uygun şekilde boyutlandırılmış alikotlara ayırın ve -20°C'de saklayın. Taşıyıcı RNA alikotlarını 3 defadan fazla dondurup çözdüremeyin.

 Taşıyıcı RNA, Lizis Tamponu (AL) içinde çözünmez. Öncelikle Elüsyon Tamponu (AVE) içinde çözünmesi ve ardından Lizis Tamponuna (AL) eklenmesi gerekir. Taşıyıcı RNA'nın, Lizis Tamponu (AL) ile karıştırılmadan önce doğru hacimde Elüsyon Tamponu (AVE) içinde tamamen çözündüğünden emin olun.

Tablo 1, sayfa 29'dan eş zamanlı olarak işlenecek örnek sayısını seçerek, her örnek grubu için gerekli olan Lizis Tamponu (AL)–taşıyıcı RNA karışımının hacmini hesaplayın. Daha yüksek örnek sayısı için hacimler aşağıdaki örnek hesaplaması kullanılarak hesaplanabilir:

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

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

kısaltmalar: n = eş zamanlı olarak işlenecek örnek sayısı

y = hesaplanan Lizis Tamponu (AL) hacmi

z = Lizis Tamponuna (AL) eklenecek taşıyıcı RNA–Elüsyon Tamponu (AVE) hacmi

Tüpü 10 kez baş aşağı çevirerek yavaşça karıştırın. Köpük oluşmasını önlemek için vortekslemeyin.

Tablo 1. QIAamp DSP Virus Spin prosedüründe spesifik örnek numaraları (No.) için gerekli olan Lizis Tamponu (AL) ve taşıyıcı RNA–Elüsyon Tamponu (AVE) karışımı hacimleri*

Örnek no.	Lizis Tamponu (AL)* hacmi (ml)	Taşıyıcı RNA-AVE hacmi (µl)	Örnek no.	Lizis Tamponu (AL)* hacmi (ml)	Taşıyıcı RNA-AVE hacmi (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



Örnek hazırlama prosedürü, örnek başına 5,6 µg taşıyıcı RNA için optimize edilir. Amplifikasyon sisteminiz için daha az taşıyıcı RNA'nın daha iyi olduğu gösterilmişse Lizis Tamponu (AL) içeren tüplere yalnızca gereken miktarda çözünmüş taşıyıcı RNA aktarın. Hazırlama başına gereken her bir mikrogram taşıyıcı RNA için bir mililitre Lizis Tamponu (AL) başına 5 µl Elüsyon Tamponu (AVE) içinde çözünmüş taşıyıcı RNA ekleyin. Örnek başına 5,6 µg'dan az taşıyıcı RNA kullanılması, her belirli örnek tipi ve aşağı akışı tahlil için doğrulanmalıdır.

*Dahili kontrol kullanılıyorsa Lizis Tamponu (AL) hacmini buna göre azaltın.

Otomatik prosedür için, yukarıda açıklandığı şekilde AVE içinde taşıyıcı RNA'yı hazırlayın (1 µg/µl'lik bir solüsyon elde etmek üzere). Sonraki adımda, QIAcube Connect MDx'e, gerekli örnek sayısına ek olarak iki örnek için yeterli miktarda taşıyıcı RNA solüsyonu sağlayın. Gereken miktar, yükleme sırasında kullanıcı arayüzünde gösterilir. Taşıyıcı RNA'yı Lizis Tamponuna (AL) ekleme işlemi QIAcube Connect MDx tarafından yapılır.

Dahili kontrol karışımı, QIAcube MDx cihazının ekranında açıklandığı şekilde hazırlanır. Dahili kontrol, taşıyıcı RNA-AVE karışımına eklenir.

Yıkama Tamponu 1 (AW1) hazırlama*

Dereceli silindir kullanarak, şişe üzerinde açıklandığı şekilde, 19 ml Yıkama Tamponu 1 (AW1) konsantresi içeren bir şişeye 25 ml etanol (%96–100) ekleyin. Etanol eklendiğini belirtmek için etiketteki onay kutusunu işaretleyin. Sulandırılmış Yıkama Tamponu 1'i (AW1) oda sıcaklığında saklayın.



Prosedüre başlamadan önce mutlaka, sulandırılmış Yıkama Tamponu 1'i (AW1) şişeyi birkaç kez baş aşağı çevirerek karıştırın.

Yıkama Tamponu 2 (AW2) hazırlama †

Dereceli silindir kullanarak, şişe üzerinde açıklandığı şekilde, 13 ml Yıkama Tamponu 2 (AW2) konsantresi içeren bir şişeye 30 ml etanol (%96–100) ekleyin. Etanol eklendiğini belirtmek için etiketteki onay kutusunu işaretleyin. Sulandırılmış Yıkama Tamponu 2'yi (AW2) oda sıcaklığında saklayın.



Prosedüre başlamadan önce mutlaka, sulandırılmış Yıkama Tamponu 2'yi (AW2) şişeyi birkaç kez baş aşağı çevirerek karıştırın.

Elüsyon Tamponu (AVE) hazırlama

Kit ile birlikte dört tüp Elüsyon Tamponu (AVE) temin edilir. Tamponu RNazlar ile kontamine etmemeye dikkat edin. Tek bir kit kullanarak 4 veya daha az saflaştırma prosedürü gerçekleştiriyorsanız, her bir prosedürün sonunda Elüsyon Tamponu (AVE) tüpünün atılmasını öneririz.

* Kaotropik tuz içerir. Kullanırken uygun laboratuvar güvenlik önlemlerini alın ve eldiven takın. Çamaşır suyu içeren dezenfektanlarla uyumlu değildir. Güvenlik bilgileri için bkz. sayfa 16.

† Koruyucu madde olarak sodyum azid içerir.

Protokol: Mikrosantrifüj veya QIAcube Connect MDx kullanarak plazma veya serumdan viral nükleik asitlerin saflaştırılması

Mikrosantrifüj ile QIAamp DSP Virus Spin Kit kullanılarak veya QIAcube Connect MDx'te otomatik olarak EDTA veya sitrat ile işlenmiş 200 µl plazma veya serumdan viral nükleik asitlerin saflaştırılması içindir.

Başlamadan önce önemli noktalar


- Aşağıdaki prosedür, tek bir örneğin işlenmesine yönelik talimatlar sunmaktadır. Bununla birlikte, aynı anda birçok örnek işlenebilir. Örnek sayısı, kullanılan mikrosantrifüjün kapasitesine bağlıdır.
- QIAcube Connect MDx'te 2-10 veya 12 örneğin otomatik işlenmesi gerçekleştirilebilir.
- Otomasyon için, kullanıcı arayüzündeki (QIAcube Connect MDx) talimatları izleyin ve QIAcube Connect MDx kullanım kılavuzu belgesine bakın.

Başlamadan önce yapılacaklar

- Örnekleri oda sıcaklığına getirin (15–25°C) ve iyi karışmış olduklarından emin olun.
- Tüm reaktiflerin ve QIAamp MinElute kolonlarının (kapalı blister ambalaj içinde) oda sıcaklığına dengelendiğinden emin olun.
- Adım 4'te kullanmak üzere bir ısıtma bloğunu 56°C'ye ayarlayın (cihaz dışı manuel lizis ile manuel prosedür ve otomatik prosedür için gereklidir).
- Yıkama Tamponu 1 (AW1), Yıkama Tamponu 2 (AW2) ve QIAGEN Protease'ın (QP) 26–30. sayfalarda yer alan talimatlar doğrultusunda hazırlanmış olduğundan emin olun.
- Lizis Tamponu (AL) içinde çökelti oluştuysa, 56°C'de inkübe ederek çözündürün.
- Sayfa 27'deki talimatlara göre Elüsyon Tamponunda (AVE) sulandırılan taşıyıcı RNA'yı Lizis Tamponuna (AL) ekleyin (yalnızca manuel prosedür için).



- Mmkinse her prosedür için yeni Elüsyon Tamponu (AVE) (4 tp temin edilir) kullanın.
- QIAGEN'deki kalite kontrol prosedürleri her bir kit lotu için işlevsel kit piyasaya sürüm testi barındırır. Bu nedenle, farklı kit lotlarından reaktifleri karıştırmayın ve farklı reaktif lotlarından ayrı reaktifleri bir araya getirmeyin.

Prosedür

- Mikrosantrifüj ile manuel prosedür için 1–15 arası adımları izleyin.
 - Bu prosedür, QIAcube Connect MDx'te iki farklı versiyonda otomatik hale getirilebilir:
 - Plasma or Serum_Standard (Plazma veya Serum_Standart): 200 µl örnek kullanılarak tamamen otomatik (otomasyon adım 1'den başlar)
 - Plasma or Serum_Manual lysis (Plazma veya Serum_Manuel lizis): 200 µl başlangıç rneği hacmi kullanılarak cihaz dışı manuel lizis ile kısmen otomatik (otomasyon adım 5'ten sonra başlar)
1. 25 µl QIAGEN Protease'ı (QP) bir lizis tüpü (LT) içine pipetleyin.
 -  Sulandırılmış proteazı kullanmadan önce son kullanma tarihini kontrol edin.
 2. Lizis tüpüne (LT) 200 µl plazma veya serum ekleyin.

Not: rnek hacmi 200 µl'den azsa proteaz ve örnek hacmini toplamda 225 µl'ye getirmek için uygun hacimde %0,9 sodyum klorür solüsyonu ekleyin.
 3. 200 µl Lizis Tamponu (AL) ekleyin (28 µg/ml taşıyıcı RNA ve isteğe bağlı olarak dahili kontrol içerir). Kapağı kapatın ve ≥15 sn boyunca puls vorteksleme ile karıştırın.

Lizisin verimliliğini sağlamak için örnek ve Lizis Tamponunun (AL) homojen bir çözelti verecek şekilde iyice karışması son derece önemlidir.

 -  Lizis Tamponu (AL), dahili kontrol içerir. Lizis Tamponu (AL) yüksek viskoziteli olduğu için dikkatlice pipetleyerek doğru hacimde Lizis Tamponu (AL) eklediğinizden emin olun.
 -  QIAGEN Protease'ı (QP) doğrudan Lizis Tamponuna (AL) eklemeyin.

4. Bir ısıtma bloğunda 56°C'de 15 dakika inkübe edin.
5. Kapağın içindeki damlaları gidermek için lizis tüpünü (LT) kısa süre santrifüjleyin.
Not: Manuel lizis (adım 1–15) cihaz dışında yapılmışsa aşağıdaki adımlar (adım 6–15) otomatik hale getirilebilir: QIAcube Connect MDx'te "Manual lysis protocol" (Manuel lizis protokolü).
6. Örneğe 250 µl etanol (%96–100) ekleyin, kapağı kapatın ve ≥15 saniye boyunca puls vorteksleme ile iyice karıştırın. Lizatı etanol ile oda sıcaklığında (15–25°C) 5 dakika inkübe edin.
7. Kapağın içindeki damlaları gidermek için tüpü kısa süre santrifüjleyin.
8. Adım 7'deki lizatın tümünü QIAamp MinElute kolonuna kenarını ıslatmadan dikkatlice uygulayın. Kapağı kapatın ve >1 dakika boyunca yaklaşık 6000 x g'de santrifüjleyin. QIAamp MinElute kolonunu 2 ml'lik temiz bir yıkama tüpüne (WT) yerleştirin ve süzüntüyü içeren yıkama tüpünü (WT) atın.



Lizat santrifüjleme sonrasında kolondan tamamen geçmemişse QIAamp MinElute kolonu boş kalana kadar daha yüksek hızda tekrar santrifüjleyin.

9. QIAamp MinElute kolonunu dikkatle açın ve kenarı ıslatmadan 500 µl Yıkama Tamponu 1 (AW1) ekleyin. Kapağı kapatın ve ≥1 dakika boyunca yaklaşık 6000 x g'de santrifüjleyin. QIAamp MinElute kolonunu 2 ml'lik temiz bir yıkama tüpüne (WT) yerleştirin ve süzüntüyü içeren yıkama tüpünü (WT) atın.
10. QIAamp MinElute kolonunu dikkatle açın ve kenarı ıslatmadan 500 µl Yıkama Tamponu 2 (AW2) ekleyin. Kapağı kapatın ve >1 dakika boyunca yaklaşık 6000 x g'de santrifüjleyin. QIAamp MinElute kolonunu 2 ml'lik temiz bir yıkama tüpüne (WT) yerleştirin ve süzüntüyü içeren yıkama tüpünü (WT) atın.
11. QIAamp MinElute kolonunu dikkatle açın ve kenarı ıslatmadan 500 µl etanol (%96–100) ekleyin. Kapağı kapatın ve >1 dakika boyunca yaklaşık 6000 x g'de santrifüjleyin. Süzüntüyü içeren yıkama tüpünü (wash tube, WT) atın.



Elüata etanol taşınması, aşağı akışlı uygulamalarda sorunlara yol açabilir. Bazı santrifüj rotorları yavaşlama sırasında titreşim yaratarak, etanol içeren akan kısmın

QIAamp MinElute kolonuna temas etmesine neden olabilir. QIAamp MinElute kolonunun ve yıkama tüpünün (wash tube, WT) rotordan çıkarılması da akan kısmın QIAamp MinElute kolonuna temas etmesine neden olabilir.

12. QIAamp MinElute kolonunu 2 ml'lik temiz bir yıkama tüpüne (WT) yerleştirin. Membranı tamamen kurutmak için tam hızda (yaklaşık 20.000 x g) 3 dakika santrifüjleyin.



Kuru santrifüjleme adımının atlanması, aşağı akışlı tahlilin inhibisyonuna yol açabilir.

13. QIAamp MinElute kolonunu yeni bir 2 ml'lik yıkama tüpüne (wash tube, WT) yerleştirin, kapağı açın ve kalan sıvıyı buharlaştırmak üzere membranı tamamen kurutmak için grubu 56°C'de 3 dakika inkübe edin.

14. QIAamp MinElute kolonunu yeni bir elüsyon tüpüne (elution tube, ET) yerleştirin ve süzüntüyü içeren yıkama tüpünü (wash tube, WT) atın. QIAamp MinElute kolonunun kapağını dikkatlice açın ve membranın ortasına 20-150 µl Elüsyon Tamponu (AVE) uygulayın.



Aşağı akışlı tahlilin inhibisyonuna yol açabilecek, kalan yıkama tamponlarıyla kontaminasyondan kaçınmak için yeni bir elüsyon tüpünün kullanılması önemlidir.



Elüsyon tamponunun membranın ortasına dağıtılması, nükleik asitlerin ve elüsyon tamponunun optimum şekilde alınmasını sağlamak adına daha küçük elüsyon hacimleri elde etmek bakımından özellikle önemlidir.



Elüsyon hacmi, aşağı akışlı uygulamanın gerekliliklerine göre uyarlanabilir.

Otomatik iş akışında, 5 µl'lik artışlarla 60-100 µl elüsyon hacimleri mümkündür.

Santrifüjleme sonrasında döndürme kolonu membranı tarafından tutulan kalan elüsyon tamponu nedeniyle, geri kazanılan elüat hacminin kolona uygulanan elüsyon tamponu hacminden düşük olabileceğini unutmayın.



Elüsyon tamponunun oda sıcaklığına dengelendiğinden emin olun.

15. Kapağı kapatın ve oda sıcaklığında ≥ 3 dakika boyunca inkübe edin. Tam hızda (yaklaşık 20.000 x g) 1 dakika boyunca santrifüjleyin.



Elüsyon tüpü kapaklarını, rotorun dönüş yönünün tersine bakacak şekilde yönlendirin (örn. rotor saat yönünde dönüyorsa kapakları saat yönünün tersine bakacak şekilde yönlendirin).



Tüm otomatik prosedürlerde, biten çalışmadan hemen sonra elüatları cihazdan çıkarın ve uygun şekilde saklayın.

Kalite Kontrol

QIAGEN'in ISO sertifikalı Kalite Yönetim Sistemi uyarınca her QIAamp DSP Virus Spin Kit lotu, tutarlı ürün kalitesini sağlamak üzere önceden belirlenmiş spesifikasyonlara göre test edilir.

Sınırlamalar

Sistem performansı, insan plazma ve serum örneklerinden viral nükleik asitlerin saflaştırıldığı performans değerlendirmesi çalışmalarında belirlenmiştir.

QIAGEN performans çalışmaları kapsamında olmayan laboratuvarlarında kullanılan herhangi bir prosedür için sistem performansının doğrulanması kullanıcının sorumluluğundadır.

Taniya yönelik sonuç üzerinde olumsuz etki riskini minimuma indirmek üzere aşağı akışlı uygulamalar için yeterli kontroller kullanılmalıdır. Elde edilmiş herhangi bir tanı amaçlı sonucun diğer klinik veya laboratuvar bulguları ile birlikte yorumlanması gerekir.

Performans Özellikleri

Geçerli performans özellikleri, www.qiagen.com adresindeki ürün sayfasının kaynaklar sekmesi altında bulunabilir.

Sorun Giderme Kılavuzu

Bu sorun giderme kılavuzu ortaya çıkabilecek sorunların çözümünde yardımcı olabilir. Daha fazla bilgi için ayrıca Teknik Destek Merkezimizdeki Sık Sorulan Sorular sayfasına da bakın: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. QIAGEN Teknik Servislerindeki bilim insanları bu el kitabındaki bilgi ve protokollerle ya da örnek ve/veya tahlil teknolojileriyle ilgili herhangi bir sorunuzu cevaplandırmaktan daima mutlu olacaktır (irtibat bilgileri için www.qiagen.com adresini ziyaret edin).

Yorumlar ve öneriler

Genel kullanım

- a) Pipet uçlarının örnek transferi sırasında tıkanması
- Donmuş örnekler çözündürme sonrasında uygun şekilde karıştırılmamıştır. Donmuş örnekleri iyice karışmaları için hafifçe çalkalayarak çözündürün.
- Dondurma-çözündürme sırasında oluşan kriyopresipitatlar QIAamp MinElute membranını tıkar. Kriyopresipitatlar görünüyorsa, örneği 16.000 x g'de 5 dakika santrifüjleme ile temizleyin.
- b) Tıkanmış QIAamp MinElute kolonu
- 6000 x g hızda (8000 rpm) santrifüjleme sonrasında lizat membrandan tamamen geçmediyse, tam hızda (20.800 x g hızı kadar) 1 dakika boyunca yeniden santrifüjleyin.
- Lizat santrifüjleme sırasında hala membrandan geçmiyorsa adım 1'den başlayarak, örneği atıp izolasyon ve saflaştırmayı yeni örnek materyaliyle tekrarlayın.
- Dondurma-çözündürme sırasında oluşan kriyopresipitatlar QIAamp MinElute kolon membranını tıkar. Kriyopresipitatlar görünüyorsa, örneği 16.000 x g'de 5 dakika santrifüjleme ile temizleyin.
- Lizis sırasında buzla soğutulmuş etanol kullanılması, membran tıkanması riskini azaltmaya yardımcı olabilir. Ayrıca, lizis için tamponların yukarıda açıklanan doğru sırada eklenmesi son derece önemlidir. QIAGEN Protease'ı (QP) doğrudan Lizis Tamponuna (AL) eklemeyin.

Yorumlar ve öneriler

- c) Lizis Tamponu içinde çökelti oluştu Lizis Tamponunu (AL) 56°C'de inkübe ederek çözün.
- d) Değişken elüsyon hacimleri Geri kazanılan elüatın hacmi, örneğin niteliğine bağlıdır. Santrifüjleme sonrasında döndürme kolonu membranı tarafından tutulan kalan elüsyon tamponu nedeniyle, geri kazanılan elüat hacmi, kolona uygulanan elüsyon tamponu hacminden düşük olabilir. Elüsyon tamponunu membranın ortasına uygulayın. Elüsyon tamponunun membranın ortasına dağıtılması, nükleik asitlerin ve elüsyon tamponunun optimum şekilde alınmasını sağlamak adına daha küçük elüsyon hacimleri elde etmek bakımından özellikle önemlidir.
- e) Otomatik iş akışında görülen sorunlar için Bkz. *QIAcube Connect MDx Kullanım Kılavuzu*.

DNA, aşağı akışlı uygulamalarda iyi performans göstermiyor

- a) Tam olmayan örnek lizisi QIAGEN Protease (QP), uzun süre boyunca yüksek sıcaklığa maruz bırakılması halinde etkinliğini yitirebilir. Prosedürü yeni örnekler ve taze QIAGEN Protease (QP) kullanarak tekrarlayın. QIAGEN Protease'ı (QP), yukarıdaki talimatlar doğrultusunda Proteaz Solvent ile çözdüğünüzden emin olun. Köpürmeyi engellemek için şişeyi birkaç kez baş aşağı çevirerek karıştırın. QIAGEN Protease'ın (QP) tamamen çözüldüğünden emin olun. QIAGEN Protease'ı (QP) doğrudan Lizis Tamponuna (AL) eklemeyin. Lizisin verimliliğini sağlamak için örnek ve Lizis Tamponunun (AL) homojen bir çözelti verecek şekilde iyice karışması son derece önemlidir. Lizis Tamponu (AL) yüksek viskoziteli olduğu için dikkatlice pipetleyerek ve uygun bir pipet kullanarak doğru hacimde Lizis Tamponu (AL) eklediğinizden emin olun.
- b) %96–100 yerine düşük yüzdeli etanol kullanılmıştır Safılaştırma işlemini yeni örneklerle ve %96–100 etanol ile tekrarlayın. Metanol veya metiletilketon gibi başka maddeler içeren denatüre alkol kullanmayın.

Yorumlar ve öneriler

- c) Yıkama Tamponu 1 (AW1) veya Yıkama Tamponu 2 (AW2) yanlış hazırlandı
- Prosedür başlatılmadan önce Yıkama Tamponu 1 (AW1) ve Yıkama Tamponu 2 (AW2) konsantrlerinin doğru hacimde %96–100 etanol ile seyreltildiğinden ve şişe birkaç kez baş aşağı çevrilerek karıştırıldığından emin olun.
- d) Plazma ve serum örnekleri doğru şekilde hazırlanmadı, saklanmadı veya karıştırılmadı
- Safılaştırma prosedürü, insan plazma ve serum örnekleriyle kullanım için optimize edilmiştir. Antikoagülan olarak EDTA veya sitratla muamele edilmiş kan örnekleri plazma hazırlanması için kullanılabilir. Toplama ve santrifügasyondan sonra plazma veya serum, 2–8°C'de 6 saate kadar saklanabilir. Uzun süreli saklama için -80°C ila -20°C'de alikotlar halinde dondurma önerilir.
- Donmuş plazma veya serum örnekleri birden fazla kez çözündürülmemelidir. Yinelene dondurma-çözdürme, proteinlerin denatürasyon ve presipitasyonuna yol açar ve bu, viral titrelerde düşüğe ve dolayısıyla viral nükleik asit verimlerinde azalmaya neden olur.
- Donmuş örnekleri iyice karışmaları için hafifçe çalkalayarak çözündürün.
- e) Elüat içinde çok az DNA var veya hiç DNA yok
- Mümkünse elüsyon hacmini azaltın ve reaksiyona eklenen elüat miktarını artırın.
- f) Uygun olmayan elüsyon hacmi kullanılmıştır
- Aşağı akışlı uygulamanız için uygun olan maksimum elüat hacmini belirleyin. Aşağı akışlı uygulamaya eklenen elüat hacmini uygun şekilde artırın veya azaltın. Elüsyon hacmi oransal olarak uyarlanabilir. Daha düşük Elüsyon Tamponu (AVE) hacimlerine sahip elüsyon, daha yüksek nükleik asit konsantrasyonlarına yol açar.

Yorumlar ve öneriler

- g) Potansiyel inhibitörün taşınması
- Aşağı akışlı tahlilin potansiyel inhibisyonunu önlemek için elüsyon öncesinde kuru santrifüjleme adımını uyguladığınızdan emin olun.
- Aşağı akışlı tahlilin inhibisyonuna yol açabilecek, kalan yıkama tamponlarıyla kontaminasyondan kaçınmak için yeni bir elüsyon tüpünün kullanılması önemlidir. QIAamp DSP Virus Spin Kit'e yönelik örnek niteliğindeki etkileşim çalışmalarına göre ve ISO 20186-2:2019(E) uyarınca, kan toplama tüplerinden heparin, izole edilmiş nükleik asitlerin saflığını etkileyebilir ve elüatlara olası taşınma, bazı aşağı akışlı uygulamalarda inhibisyonlara neden olabilir. Bu nedenle, antikoagülan olarak EDTA veya sitrat ile işlenmiş kan örneklerinin kullanılmasını öneririz.
- h) Taşıyıcı RNA bozuldu/yanlış hazırlandı
- Taşıyıcı RNA iki amaca hizmet eder: İlk olarak, özellikle örnekte çok az hedef molekül bulunuyorsa viral nükleik asitlerin QIAamp membranına bağlanmasını sağlar. İkinci olarak, yüksek miktarda taşıyıcı RNA eklenmesi, RNaz moleküllerinin Lizis Tamponu (AL) içinde bulunan kaotropik tuzlar ve deterjan tarafından denatürasyondan kaçtığı nadir durumlarda, viral RNA bozunması olasılığını azaltır.
- Taşıyıcı RNA Lizis Tamponuna (AL) eklenmezse bu durum viral RNA veya DNA geri kazanımında azalmaya yol açabilir.
- Taşıyıcı RNA yalnızca Elüsyon Tamponu (AVE) içinde çözünebilir; çözülmüş taşıyıcı RNA, hemen Lizis Tamponuna (AL) eklenmelidir.
- Piyasada bulunan aşağı akışlı tahlillerin bazı dahili kontrol reaktiflerine de taşıyıcı RNA eklenebilir. Bu durumlarda lütfen aşağı akışlı tahlil üreticisinin ilgili kullanım talimatlarına bakın.

Semboller

Aşağıdaki semboller, kullanım talimatlarında veya ambalaj ve etiket üzerinde görülür:

Sembol

Sembol tanımı



<N>

<N> reaksiyon için yeterli reaktif içerir



Kullanım talimatlarına bakın



Son kullanma tarihi



Bu ürün, in vitro tanı amaçlı tıbbi cihazlar için Avrupa Yönetmeliği 2017/746'nın gerekliliklerini karşılamaktadır.



İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz



Katalog numarası



Önemli not



Lot numarası



Malzeme numarası (bileşen etiketi)



Bileşenler



Hacim



Sıcaklık sınırlaması



Üretici

Sembol

Sembol tanımı



Gelince



Teslim edildikten sonra QIAamp MinElute kolonlarını 2–8°C'de saklayın



Şişeye etanol kattıktan sonra geçerli tarihi yazın

ADD

Ekleme

CONT

İçerik

LYOPH

Liyofilize

RCNS

Yeniden hazırlama maddesi

EtOH

Etanol

GuHCl

Guanidin hidroklorür

MALEIC ACID

Maleik asit

SUBT

Subtilizin

GTIN

Küresel Ticaret Parça Numarası



Şuna neden olur

NUM

Numara

Rn

R, Kullanım Talimatları revizyonu olup n ise revizyon numarasıdır



Güneş ışığından uzak tutun

Sembol

Sembol tanımı



Uyarı/dikkat



Benzersiz cihaz tanımlayıcı

Ek

RNA Muamelesi

Ribonükleazlar (RNazlar) genel olarak çalışmak için kofaktörler gerektirmeyen çok stabil ve aktif enzimlerdir. RNazların inaktivasyonu zor olduğundan ve RNA'nın imha edilmesi için çok az miktarlar bile yeterli olduğundan önce RNaz kontaminasyonu olasılığını ortadan kaldırmadan herhangi bir plastik veya cam malzeme kullanmayın. İzolasyon işlemi sırasında veya sonrasında RNA örneğine RNazları istemeden sokmamak için dikkatli olunmalıdır. RNaz içermeyen bir ortam oluşturmak ve sürdürmek için RNA ile çalışırken tek kullanımlık olan ve olmayan kaplar ve solüsyonların ön muamelesi ve kullanımı sırasında aşağıdaki önlemler alınmalıdır.

Genel kullanım

RNA ile çalışırken daima uygun mikrobiyolojik aseptik teknik kullanılmalıdır. Eller ve toz partikülleri bakteri ve küf taşıyabilir ve RNaz kontaminasyonunun en sık görülen kaynaklarıdır. Cilt yüzeyinden veya tozlu laboratuvar ekipmanından RNaz kontaminasyonunu önlemek için reaktifler ve RNA örneklerinin kullanımı sırasında daima lateks veya vinil eldivenler kullanın. Eldivenlerinizi sık sık değiştirin ve tüpleri kapalı tutun.

Sipariş Bilgileri

Ürün	İçerik	Kat. no.
QIAamp DSP Virus Spin Kit (50)	50 hazırlama için: QIAamp MinElute kolonları, Tamponlar, Reaktifler, Tüpler, VacConnectors	61704
İlgili ürünler		
QIAcube Connect MDx*	Cihaz ve parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti	9003070
Aksesuarlar		
Rotor Adapters	240 hazırlama için: 240 Tek Kullanımlık Rotor Adaptörü ve 240 Elüsyon Tüpü (1,5 ml); QIAcube Connect MDx ile kullanılmak üzere	990394
Rotor Adapter Holder	12 tek kullanımlık rotor adaptörü için tutucu; QIAcube Connect MDx ile kullanılmak üzere	990392
Sample Tubes CB	1000 etekli tabansız konik vida kapaklı tüp (2 ml); QIAcube Connect MDx ile kullanılmak üzere	990382
Shaker Rack Plugs	QIAcube Connect MDx çalkalayıcı rafına yüklemek üzere	9017854
Reagent Bottles, 30 ml	Reaktif Şişeleri (30 ml) kapaklı; 6'lı paket; QIAcube Connect MDx ile kullanılmak üzere	990393
Filter-Tips, 1000 µl	Tek Kullanımlık Filtre Uçları, askılanmış; (8 x 128). QIAcube Connect MDx ile kullanılmak üzere	990352

Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore	Tek Kullanımlık Filtre Uçları, geniş delikli, askılanmış; (8 x 128); tüm protokoller için gerekli değildir. QIAcube Connect MDx ile kullanılmak üzere	990452
Filter-Tips, 200 µl	Tek Kullanımlık Filtre Uçları, askılanmış; (8 x 128). QIAcube Connect MDx ve QIASymphony SP/AS cihazlarıyla kullanım içindir	990332

* QIAcube Connect MDx tüm ülkelerde mevcut değildir. Daha fazla ayrıntı için lütfen QIAGEN Teknik Servisi ile irtibat kurun.

Güncel lisanslama bilgileri ve ürüne özgü ret beyanları için ilgili QIAGEN kiti Kullanım Talimatlarına bakın. QIAGEN kiti Kullanım Talimatları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servislerinden veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Belge Revizyon GemiŖi

Revizyon

Açıklama

R1, Haziran 2022

Versiyon 2, Revizyon 1

- IVDR ile uyum için Kit Versiyonu 2'e güncelleme
- Kullanım Amacı ve Sınırlamalar bölümlerinin güncellenmesi
- Açıklama ve İlke bölümünün güncellenmesi
- Sağlanan Materyaller (Aktif bileŖenlerin eklenmesi) ve Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Materyaller bölümlerinin güncellenmesi
- Uyarılar ve önlemler bölümünün güncellenmesi (Acil durum bilgilerinin ve Bertaraf bölümünün eklenmesi)
- Reaktif Saklama ve Kullanma bölümünün güncellenmesi
- Numune Alma, Saklama ve Kullanma bölümünün güncellenmesi
- nemli Notlar ve Prosedür bölümlerinin güncellenmesi
- Performans zellikleri bölümünün güncellenmesi
- Ek Bölümünün güncellenmesi
- Sorun Giderme Kılavuzunun eklenmesi
- Semboller bölümünün güncellenmesi
- SipariŖ Bilgileri bölümünün güncellenmesi

Bu sayfa özellikle boş bırakılmıştır

Bu sayfa özellikle boş bırakılmıştır

QIAamp® DSP Virus Spin Kit İçin Sınırlı Lisans Sözleşmesi

Bu ürünün kullanımı herhangi bir alıcının veya ürün kullanıcısının aşağıdaki koşulları kabul ettiği anlamına gelir:

1. Ürün yalnızca ürünle birlikte ve bu Kullanım Talimatlarında verilen protokollere uygun olarak kullanılabilir ve yalnızca panelin içinde bulunan bileşenlerle kullanım içindir. QIAGEN, bu panel ile birlikte verilen bileşenlerin ürünle birlikte verilen protokollerde, bu Kullanım Talimatlarında ve www.qiagen.com adresinden ulaşılabilen ek protokollerde belirtilenlerin dışında bu panelin içinde yer almayan herhangi bir bileşenle kullanımı veya birleştirilmesi için kendi fikri mülkiyet haklarının herhangi biri altında lisans hakkı vermez. Bu ek protokollerden bazıları QIAGEN kullanıcıları tarafından QIAGEN kullanıcıları için sağlanmıştır. Bu protokoller QIAGEN tarafından kapsamlı şekilde test edilmemiş veya optimize edilmemiştir. QIAGEN üçüncü tarafların haklarını ihlal etmediğini garanti etmez ve beyan etmez.
2. Açıkça belirtilen lisanslar dışında, QIAGEN bu panel ve/veya kullanımlarının üçüncü tarafların haklarını ihlal etmeyeceğini garanti etmez.
3. Bu panel ve bileşenleri bir kez kullanım için lisanslıdır ve tekrar kullanılamaz, yenilenemez veya tekrar satılamaz.
4. QIAGEN açıkça ifade edilenden dışında açık veya zımnî diğer tüm lisansları açıkça reddeder.
5. Panelin alıcısı veya kullanıcısı yukarıda yasaklanan eylemlere neden olabilecek veya kolaylaştırabilecek herhangi bir girişimde bulunmayacağını ve başka birisine izin vermeyeceğini kabul eder. QIAGEN herhangi bir Mahkemede bu Sınırlı Lisans Sözleşmesi yasaklamaların uygulanabilir ve bu sınırlı lisans sözleşmesinin veya panel ve/veya bileşenleriyle ilgili fikri mülkiyet haklarının herhangi birinin uygulanmasına yol açan tüm durumlarda avukat ücreti dahil tüm soruşturma ve mahkeme masraflarını geri alabilir.

Güncellenmiş lisans şartları için bkz. www.qiagen.com.

Ticari Markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAcube®, QIAamp® (QIAGEN Group). Bu belgede geçen tescilli adlar, ticari markalar vb. açıkça bu şekilde belirtilmemiş olsa bile yasalarca korunmaktadır.

1127542TR 06/2022 HB-3031-001 © 2022 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

Sipariş www.qiagen.com/shop | Teknik Destek support.qiagen.com | Web Sitesi www.qiagen.com