2022 년 6 월

QIAamp® DSP Virus Kit 사용 설명서(안내서)

Σ 50

버전 2

IVD

체외 진단용

QIAamp® DSP Virus Kit 용

CE

REF 60704

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 독일

R1 MAT 1127541KO

Sample to Insight

목차

용도 4

대상 사용자 4

설명 및 원리 5

QIAGEN Protease (QP)를 사용한 용해 5

QIAamp MinElute 막에 흡착 5

잔류 오염물질 제거 5

바이러스 핵산 용출 6

바이러스 핵산의 수율 및 품질 6

내부 대조물질의 추가 7

요약 및 설명 9

제공되는 품목 10

키트 내용물 10

키트 구성품 11

필요하지만 제공되지 않는 품목 12

추가 시약 12

소모품 12

장비 12

경고 및 예방 조치 13

안전성 정보 13

긴급 정보 14

예방 조치 15

폐기 16

시약 보관 및 취급 17
사용 중 안정성 17
시료의 채집, 보관 및 취급 19
중요 참고 20
시작 전 중요 사항 20
QIAamp MinElute 컬럼의 취급 21
시약 및 완충액 준비 21
QIAvac 24 Plus 진공 시스템 준비 26
프로토콜: 혈장 및 혈청에서 바이러스 핵산 분리 및 정화 28
품질 관리 32
제한 사항 33
성능 특징 34
문제 해결 가이드 35
기호 39
부록 42
주문 정보 43
문서 개정 이력 44

용도

QIAamp® DSP Virus Kit 는 사람 혈장 또는 혈청 검체에서 바이러스 핵산을 수동으로 분리하고 정제하는 제품입니다.

QIAamp DSP Virus Kit 는 실리카 막 기술(QIAamp 기술)을 사용하여 사람 혈장 또는 혈청 검체에서 바이러스 핵산을 분리하고 정제합니다.

이 제품은 체외 진단용으로, 분자생물학 기법 교육을 받은 기술자 및 의사와 같은 전문 사용자가 사용해야 합니다.

대상 사용자

본 제품은 분자생물학 기법 교육을 받은 전문 기술자 및 의사와 같은 전문 사용자가 사용해야 합니다.

설명 및 원리

QIAamp DSP Virus 절차는 4 단계(용해, 결합, 세척, 용출)로 구성되며, QIAamp MinElute® 컬럼과 진공 매니폴드 및 표준 마이크로 원심분리기를 함께 사용하여 수행됩니다. 이 절차는 검체 간 교차 오염의 가능성을 최소화하고, 잠재적인 감염성 검체를 안전하게 처리할 수 있도록 설계되었습니다. 이 간단한 QIAamp DSP Virus 절차는 여러 검체의 동시 처리에 적합합니다. QIAamp DSP Virus Kit 는 광범위한 RNA 및 DNA 바이러스로부터 바이러스 RNA 및 DNA 를 분리하는 데 사용할 수 있습니다. 그러나 성능 특징이 모든 바이러스 종에 대하여 검증되지 않았으므로 사용자가 검증해야 합니다.

QIAGEN Protease (QP)를 사용한 용해

검체를 고온 및 변성 조건에서 용해합니다. 용해는 QIAGEN Proteinase (QP) 및 용해 완충액(AL)를 사용하여 수행하며 이 둘은 함께 RNase 를 비활성화합니다.

QIAamp MinElute 막에 흡착

결합 조건은 바이러스 RNA 와 DNA 가 막에 최적 결합되도록 에탄올을 첨가하여 조정합니다. 이후 용해물이 QIAamp MinElute 컬럼으로 옮겨지고, 진공 압력에 의해 막을 통과할 때 바이러스 핵산은 실리카 겔 막에 흡착됩니다. 염 및 pH 조건은 PCR 및 그 밖의 후속적 효소 반응을 억제할 수 있는 단백질 및 기타 오염물질이 QIAamp MinElute 막에 유지되지 않도록 합니다.

잔류 오염물질 제거

핵산은 막에 결합되어 있는 반면, 오염물질은 3 번의 세척 단계에서 효율적으로 씻겨 나갑니다.

바이러스 핵산 용출

한 번의 단계에서 고순도의 바이러스 RNA 와 DNA 가 실온으로 맞춰진 용출 완충액(AVE)의 QIAamp MinElute 컬럼 막에서 용출됩니다. QIAamp MinElute 컬럼은 20 µl 또는 60 µl 의 용량을 용출할 수 있습니다. 시작 용량이 적어야 하는 다운스트림 분석의 경우(일부 PCR 및 RT-PCR 분석 등) 용출 완충액(AVE) 20 µl 로 용출한 바이러스 핵산을 사용하면 분석 민감도가 높아질 수 있습니다.

시작 용량이 더 많아야 하는 다운스트림 분석의 경우 용출량을 최대 60 µl 까지 늘릴 수 있습니다. 그러나 용출량의 증가는 용출액에서 핵산의 농도를 감소시킬 것입니다.

원심분리 후 스핀 컬럼 막에 유지되는 남은 용출 완충액으로 인해 회수되는 용출액 용량이 컬럼에 적용된 용출 완충액 용량보다 적을 수 있습니다. 또한 회수되는 용출액 용량은 검체의 성질에 따라 다릅니다.

용출된 바이러스 핵산은 용출 튜브(ET)에 수집하여 2-8°C 에서 24 시간 동안 보관할 수 있습니다. 24 시간을 초과해 장기간 보관하려면 정제된 핵산을 –20°C 에서 보관하는 것이 좋습니다.

참고: 용출액 안정성은 다양한 요소에 따라 크게 달라지며 특정 다운스트림 분석과 관련이 있습니다. 이는 QIAamp DSP Virus Kit 를 전형적인 다운스트림 분석과 함께 사용하여 평가했습니다. 실험실에서 사용되는 특정 다운스트림 분석에 대한 사용 설명서을 확인하고 적절한 보관 조건을 설정하기 위해 전체 작업 흐름을 검증하는 것은 사용자의 책임입니다.

바이러스 핵산의 수율 및 품질

생물학적 검체로부터 분리되는 바이러스 핵산의 수율은 일반적으로 1 µg 미만입니다. 수율 결정을 위해 정량적 증폭 방법이 권장됩니다. QIAamp DSP Virus 프로토콜을 사용하여 분리된 핵산을 정량화할 때는 검체에 바이러스 RNA 보다 운반체 RNA 가 훨씬 더 많음을 기억하십시오.

운반체 RNA 는 두 가지 작용을 합니다. 먼저 특히 검체에 목표 분자가 매우 적을 시 바이러스 핵산과 QIAamp 막 간의 고정력을 강화시켜 줍니다. 둘째, 드물기는 하지만 RNase 분자가 용해 완충액(AL)의 카오트로픽 염 및 세제에 의해 변성되지 않는 경우, 다량의 운반체 RNA 를 첨가하면 바이러스 RNA 분해 가능성이 감소합니다. 운반체 RNA 를 용해 완충액(AL)에 첨가하지 않으면 바이러스 RNA 또는 DNA 회수 감소로 이어질 수 있습니다.

또한 상용 다운스트림 분석의 일부 내부 대조물질 시약에도 운반체 RNA 가 들어있을 수 있습니다. 이러한 경우 해당 하향 분석법의 제조사가 제공하는 관련 사용법을 확인하십시오.

각 증폭 시스템은 반응 내에 존재하는 핵산의 총량에 따라 효율이 다릅니다. 이 키트를 이용한 용출액에는 바이러스 핵산과 운반체 RNA 가 모두 들어 있으며, 운반체 RNA 의 양이 바이러스 핵산의 양을 크게 초과합니다. 따라서 다운스트림 증폭에 추가할 용출액은 추가되는 운반체 RNA 의 양을 고려하여 계산해야 합니다. 증폭 반응에서 최고 수준의 민감도를 얻으려면 용해 완충액(AL)에 첨가되는 운반체 RNA 의 양을 조정해야 할 수 있습니다.

내부 대조물질의 추가

QIAamp DSP Virus 프로토콜을 상업용 증폭 시스템과 함께 사용하려면 정제 절차에 내부 대조물질을 도입해야 할 수 있습니다. 내부 대조물질 RNA 또는 DNA 는 운반체 RNA 와 함께 용해 완충액에 첨가되어야 합니다. 작은 분자는 효율적으로 회수되지 않으므로 최적의 정제 효율을 위해서는 내부 대조군 분자가 200 개의 뉴클레오티드보다 길어야 합니다.

최적의 농도를 결정하려면 제조업체의 지침을 참고하십시오. 권장하는 것 이외의 농도를 사용하면 증폭 효율이 저하될 수 있습니다.

QIAamp DSP Virus 절차

시작하기 전에 프로토콜(28 페이지)의 내용을 숙지하십시오.
LT 에 QP 75 µl, 검체 500 µl, AL 500 µl 를 첨가합니다.
15 초 동안 볼텍싱합니다.
56°C 에서 15 분 동안 배양합니다.
에탄올 600 µl 를 첨가합니다.
15 초 동안 볼텍싱합니다.
5 분간 실온(15-25°C)에서 배양합니다.

부착된 EXT 로 용해물을 QIAamp MinElute 컬럼으로 옮깁니다.

재구성된 AW1 600 µl 를 첨가합니다.

EXT 를 분리합니다.

재구성된 AW2 750 µl 를 첨가합니다.

에탄올 750 µl 를 첨가합니다.

QIAamp MinElute 컬럼을 WT 에 넣습니다.
1 분 동안 14,000 rpm 으로 원심분리합니다.
QIAamp MinElute 컬럼을 WT 에 넣습니다.
56°C 에서 3 분 동안 배양합니다.
QIAamp MinElute 컬럼을 ET 에 넣습니다.
AVE 20 µl 또는 60 µl 를 첨가합니다.
실온에서 3 분 동안 배양합니다.
1 분 동안 14,000 rpm 으로 원심분리합니다.

요약 및 설명

QIAamp DSP Virus Kit 에는 바이러스 DNA 및 RNA 의 동시 분리 및 정제가 가능한 것으로 검증된 우수한 기술이 적용되어 있습니다. QIAamp DSP Virus 절차는 실리카 기반 멤브레인의 선택적 구속 특성과 20 또는 60 µl 의 용리 분량을 함께 이용합니다.

이 절차는 구연산염 또는 EDTA 를 함유한 혈장 또는 혈청에 사용하는 데 적합합니다. 검체가 여러 번 동결-해동되지 않았다면 신선한 상태이거나 동결건조되거나 또는 냉동 상태일 수 있습니다.

진공 절차의 경우 진공 매니폴드(예: QIAvac Connecting System 이 있는 QIAvac 24 Plus) 및 약 800-900 mbar 의 진공 상태를 달성할 수 있는 진공 펌프(예; QIAGEN® Vacuum Pump)가 프로토콜에 필요합니다. 진공 압력을 쉽게 모니터링하고 편리하게 진공 해제하기 위해 Vacuum Regulator 를 사용해야 합니다(QIAvac Connecting System 의 일부).

본 절차를 통해 다양한 RNA 및 DNA 바이러스로부터 바이러스 RNA 및 DNA 를 분리할 수 있습니다. 또한 이 절차로 검체 간 교차 오염을 방지하고 감염이 발생할 수 있는 검체를 안전하게 처리할 수 있습니다. 그 외에도 다중 검체를 동시에 처리하는 데 있어 매우 적합합니다. 바이러스 핵산은 용출 완충액(AVE)에 용출되며, 증폭 반응에 사용하거나 –20°C 에서 보관할 수 있도록 준비됩니다.

제공되는 품목

키트 내용물

QIAamp DSP Virus 카탈로그 번호 준비 수			**60704 50**
QIAamp MinElute®	QIAamp MinElute Columns with Wash Tubes (WT)(세척 튜브가 있는 QIAamp MinElute 컬럼)(2 ml)	COL	50
EXT	Column Extenders(컬럼 확장기)(3 ml)	COL EXT	50
ET	Elution Tubes(용출 튜브)(1.5 ml)	ELU TUBE	50
VC	VacConnectors	VAC CON	50
LT	Lysis Tubes(용해 튜브)(2 ml)	LYS TUBE	50
WT	Wash Tubes (WT)(세척 튜브)(2 ml)	WASH TUBE	50
AL	Lysis Buffer*(용해 완충액)	LYS BUF	33 ml
AW1	Wash Buffer 1(AW1)*(세척 완충액 1)(농축액)	WASH BUF 1 CON	19 ml
AW2	Wash Buffer 2(AW2)†(세척 완충액 2)(농축액)	WASH BUF 2 CON	13 ml
AVE	Elution Buffer†(용출 완충액)(보라색 캡)	ELU BUF	4 x 2 ml
PS	Protease Solvent‡(단백분해효소 용제)	QPROT SOLV	4.4 ml
Carrier(운반체)	Carrier RNA(운반체 RNA)(빨간색 캡)	CAR RNA	310
QP	QIAGEN® Protease(단백분해효소)‡	QPROT	바이알 1 개
–	사용 설명서(안내서)		1

* 구아니딘염산이 함유되어 있습니다. 표백제를 포함하는 소독제와 같이 사용할 수 없습니다. 안전성 정보는 13 페이지를 참고하십시오.

† 방부제 역할을 하는 아지드화 나트륨을 함유하고 있습니다

‡ 재부유량은 4.4 ml 입니다

키트 구성품

아래는 활성 성분을 포함하는 키트의 주요 구성품에 대한 설명입니다.

시약	활성 성분	농도(w/w)[%]
QIAGEN Protease (QP)	서브틸리신	≥90-≤100
AL	염산 구아니딘	≥30-<50
	말레산	≥0.1-<1
AW1	염산 구아니딘	≥50-<70

필요하지만 제공되지 않는 품목

추가 시약

- 에탄올(96-100%)*

소모품

- 피펫 † 및 피펫 팁(교차 오염을 방지하려면 에어로졸 막이 있는 피펫 팁의 사용이 강력히 권장됨)
- 일회용 장갑

장비

- 56°C 에서 2.0 ml 마이크로 검사 튜브로 검체를 용해하는 가열 블록†
- 마이크로 원심분리기†
- 측정 실린더(50 ml)
- 교반기
- QIAvac 24 Plus 진공 시스템(카탈로그 번호 19413) 또는 이와 동등한 것†

* 메탄올 또는 메틸에틸케톤과 같은 기타 물질을 함유한 변성 알코올은 사용하지 마십시오.
† 사용하기 전에 제조업체의 권장사항에 따라 기기를 점검 및 보정하십시오.

경고 및 예방 조치

기기와 관련하여 발생한 중대한 사건을 제조업체 및/또는 사용자 및/또는 환자가 거주하는 국가의 규제 당국에 보고하는 데 있어 현지 규정을 따라야 할 수 있다는 점에 유의하십시오.

체외 진단용.

키트를 사용하기 전에 모든 지침을 주의 깊게 읽으십시오.

안전성 정보

화학물질을 사용할 때는 항상 적합한 실험용 가운, 일회용 장갑 및 보안경을 착용하십시오. 자세한 정보는 적절한 안전보건자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하십시오. 해당 정보는 편리하고 용량이 작은 PDF 형식으로 www.qiagen.com/safety 에서 온라인으로 제공되며, 해당 페이지에서 각 QIAGEN 키트 및 키트 구성품에 대한 SDS 를 검색하여 보고 인쇄할 수 있습니다.

주의: 검체 준비 과정의 폐기물에 표백제나 산성용액을 직접 가하지 마십시오.

- 분리 완충액(AL) 및 세척 완충액 1(AW1)에는 구아니딘염산이 함유되어 있으며 이는 표백제와 섞었을 때 매우 반응력이 강한 화합물을 형성할 수 있습니다. 이들 완충액을 포함하는 액체를 흘린 경우 적절한 실험실 세제 및 물로 닦아내십시오. 흘린 액체에 감염체가 포함될 가능성이 있으면 해당 부분을 우선 실험실 세제 및 물로 세척한 다음 1%(v/v)의 차아염소산 나트륨으로 세척하십시오.
- 완충액 병이 손상되거나 내용물이 새는 경우 장갑과 보호용 고글을 착용하고 병을 처리하여 본인 또는 타인이 부상을 입지 않도록 주의하십시오.

- QIAGEN 은 QIAamp DSP Virus 절차에 따라 생성된 액체 폐기물에 대해 잔여 오염성 물질의 존재 여부를 시험한 바가 없습니다. 따라서 이 제품을 사용하는 동안에는 감염 가능성이 있는 인체 유래 물질 취급을 위한 범용 예방 조치(장갑, 실험용 가운, 보안경)를 취하고, 액체 폐기물은 감염성이 있는 것으로 간주하고 현지 안전 규정에 따라 취급 및 폐기해야 합니다.
- 표본 및 검체는 감염될 가능성이 있습니다. 검체 및 분석 물질 폐기물은 현지 안전 절차에 따라 폐기하십시오.

긴급 정보

CHEMTREC
미국 및 캐나다 1-800-424-9300
미국 및 캐나다 이외 +1 703-527-3887

예방 조치

QIAamp DSP Virus Kit 의 구성품에는 다음과 같은 위험 및 예방 조치 안내문이 적용됩니다.

Lysis Buffer (AL)

내용물: 염산 구아니딘, 말레산. 경고! 삼키거나 흡입하면 해로울 수 있습니다. 피부 자극을 일으킵니다. 알레르기 피부 반응을 일으킬 수 있습니다. 눈에 심한 자극을 일으킵니다. 보호용 장갑/보호복/보안경/얼굴 보호대를 착용하십시오. 몸에 이상을 느낄 시 독성물질 센터 또는 의사에게 연락하십시오. 피부 자극 또는 발진이 발생하는 경우: 의사의 진찰/치료를 받으십시오. 오염된 의복은 벗고, 다시 사용하기 전에 세탁하십시오. 내용물/용기를 승인된 폐기물 처리 시설에 폐기하십시오.

Wash Buffer 1 (AW1)

내용물: 염산 구아니딘. 경고! 삼키거나 흡입하면 해롭습니다. 피부 자극을 일으킵니다. 눈에 심한 자극을 일으킵니다. 보호용 장갑/보호복/보안경/얼굴 보호대를 착용하십시오. 오염된 의복은 벗고, 다시 사용하기 전에 세탁하십시오. 내용물/용기를 승인된 폐기물 처리 시설에 폐기하십시오.

QIAGEN Protease (QP)

내용물: 서브틸리신. 위험! 삼키면 해롭습니다. 피부 자극을 일으킵니다. 눈에 심각한 손상을 유발합니다. 흡입 시 알러지 또는 천식 증상이나 호흡에 어려움을 초래할 수 있습니다. 호흡기 자극을 초래할 수 있습니다. 먼지/연기/가스/연무/증기/비말을 흡입하지 마십시오. 보호용 장갑/보호복/보안경/얼굴 보호대를 착용하십시오. 호흡기 보호구를 착용하십시오. 눈에 들어간 경우: 물로 몇 분 동안 주의하여 씻어냅니다. 콘택트 렌즈를 끼고 있으며 쉽게 뺄 수 있는 경우 빼냅니다. 계속 씻어냅니다. 노출 또는 우려 시: 즉시 중독 센터 또는 의사에게 연락하십시오. 신선한 공기가 있는 곳으로 사람을 옮기고 편히 호흡할 수 있는 상태를 유지하십시오.

폐기

폐기물에는 검체 및 시약이 포함되어 있습니다. 이러한 폐기물은 독성 또는 감염성 물질을 함유할 수 있으며 적절하게 폐기해야 합니다. 적절한 폐기 절차는 현지 안전 규정을 참조하십시오.

자세한 정보는 적절한 안전보건자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하십시오. www.qiagen.com/safety 에서 해당 자료를 온라인 PDF 형식으로 사용할 수 있으며 각 QIAGEN 키트 및 키트 구성품에 대한 안전보건자료(Safety Data Sheet, SDS)를 찾아서 보고 인쇄할 수 있습니다.

시약 보관 및 취급

모든 구성품의 포장 상자와 라벨에 인쇄된 유효 기간 및 보관 조건에 유의해야 합니다. 유효 기간이 만료되거나 부적절하게 보관된 구성품은 사용하지 마십시오.

QIAamp MinElute 컬럼은 도착 즉시 2-8°C 에서 보관해야 합니다. 적절히 보관하면 QIAamp MinElute 컬럼은 키트 상자에 표기된 유통 기한까지 안정적입니다.

참고: 키트 구성품이 다른 키트와 혼합되지 않도록 QIAamp MinElute 컬럼에 각 키트 로트 번호로 라벨을 기입하십시오.

모든 완충액은 키트 상자의 유통 기한까지 실온(15-25°C)에서 보관할 수 있습니다.

동결 건조된 운반체 RNA 는 키트 상자에 명시된 유효 기간까지 실온에서 보관할 수 있습니다.

동결 건조된 QIAGEN Protease (QP)는 성능에 영향 없이 실온에서 유효 기한까지 보관할 수 있습니다.

사용 중 안정성

운반체 RNA 는 용출 완충액(AVE)으로만 용해할 수 있습니다. 용해된 운반체 RNA 는 22 페이지에 설명된 대로 즉시 용해 완충액(AL)에 첨가해야 합니다. 이 용액은 신선한 상태로 준비해야 하며 2-8°C 에서 최대 48 시간까지 안정성을 유지합니다. 용출 완충액(AVE)에 용해된 운반체 RNA 의 미사용 분량은 분주하여 –20°C 에서 동결해야 합니다.

단백분해효소 용제(PS)로 재구성된 QIAGEN Protease (QP)는 2-8°C 에서 보관하면 최대 1 년 동안(단, 유효 기한까지만) 안정적입니다. QIAGEN Protease (QP) 표준 원액을 실온에서 장시간 보관하는 것은 피해야 합니다.

재구성된 세척 완충액 1(AW1) 및 재구성된 세척 완충액 2(AW2)는 실온에 보관하면 최대 1 년간(단, 키트 상자에 표기된 유효 기한까지만) 안정적입니다.

시료의 채집, 보관 및 취급

참고: 검체 안정성은 다양한 인자에 따라 크게 달라지며 특정 다운스트림 분석과 관련이 있습니다. 전형적인 다운스트림 분석을 통해 평가했습니다. 실험실에서 사용되는 특정 다운스트림 분석에 대한 사용 설명서을 확인하고 적절한 보관 조건을 설정하기 위해 전체 작업 흐름을 검증하는 것은 사용자의 책임입니다.

일반적인 채집, 운송 및 보관 권장 사항은 승인된 CLSI 지침 MM13-A "분자적 방법을 위한 표본 채집, 운송, 준비 및 보관"을 참고하십시오. 또한 검체의 준비, 보관, 운송 및 일반 취급 시 선택한 검체 채집 기기에 대한 제조업체의 지침을 따라야 합니다.

이 정제 절차는 사람 혈장 및 혈청 검체에 사용하기에 적합합니다. 항응고제로 EDTA 또는 구연산염을 사용하여 처리한 혈액 검체는 혈장 정제에 사용할 수 있습니다. 검체가 여러 번 동결-해동되지 않았다면 신선한 상태이거나 냉동 상태일 수 있습니다. 냉동 검체를 부드럽게 교반하며 해동시켜 완전히 섞이게 합니다.

혈장 또는 혈청 검체는 채취 및 원심분리 후 2-8°C 에서 최대 6 시간 동안 보관할 수 있습니다. 장기 보관하려면 분주하여 −80–−20°C 에서 동결하는 것이 좋습니다. 동결된 혈장이나 혈청을 여러 번 해동해서는 안됩니다. 반복적인 동결-해동은 단백질의 변성과 침전을 유도하여 바이러스 역가를 감소시키므로 바이러스 핵산의 수율을 떨어뜨립니다. 또한 동결-해동 중에 형성되는 동결침전제제는 QIAamp MinElute 컬럼 막을 막습니다. 동결침전제제가 보이면 약 6800 x *g* 에서 3 분간 원심분리하여 펠릿화해야 합니다. 이렇게 깨끗해진 상층액은 입자를 움직이지 않도록 하고 즉시 흡입 및 처리해야 합니다. 즉시 정제 절차를 시작합니다. 낮은 중력으로 원심분리하면 바이러스 역가가 감소하지 않습니다.

참고: QIAamp DSP Virus Kit 에 대한 전형적인 간섭 연구 및 ISO 20186-2:2019(E)에 따르면 채혈 튜브의 헤파린은 분리된 핵산의 순도에 영향을 미칠 수 있으며, 용출액으로의 캐리오버 가능성은 일부 다운스트림 분석에서 억제를 유발할 수 있습니다. 따라서 항응고제로 EDTA 또는 구연산염을 사용하여 처리한 혈액 검체를 사용하는 것이 좋습니다.

중요 참고

시작 전 중요 사항

- 키트를 받은 후 키트 구성품들이 손상되지 않았는지 확인하십시오. 블리스터 팩이나 완충액 병이 손상된 경우에는 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 문의하십시오. 액체가 누출된 경우 "경고 및 예방 조치"(13 페이지)를 참고하십시오. 손상된 키트 구성요소는 성능이 저하되므로 사용하지 마십시오.
- 항상 RNase 가 없는 장비를 사용하십시오.
- 액체를 옮기는 중에는 항상 피펫 팁을 교체하십시오. 교차 오염을 최소화하려면 에어로졸 막이 있는 피펫 팁을 사용하는 것이 좋습니다.
- 항상 일회용 장갑을 사용하고 검체 물질이 묻지 않았는지 정기적으로 확인하십시오.
- 장갑이 오염되거나 장갑 기호 가 표시된 모든 절차에서 장갑을 폐기하십시오.
- 교차 오염을 최소화하기 위해 한 번에 한 개의 튜브만 개봉하십시오.
- 모든 펄스-볼텍싱 단계가 끝나면 마이크로 원심분리기 튜브를 짧게 원심분리하여 뚜껑 안쪽의 물방울을 제거합니다.
- 모든 원심분리 단계는 실온(15-25°C)에서 수행됩니다.
- 전체 절차 동안 검체 추적성이 유지되는지 확인해야 합니다.
- 로트 번호가 동일하지 않으면 다른 키트의 구성품을 현재 사용 중인 키트와 함께 사용하지 마십시오.
- 키트 시약이 미생물로 오염되지 않도록 주의하십시오.
- 잠재적 감염성 물질로 인한 감염 위험을 최소화하기 위해 당사는 검체가 용해될 때까지 환기가 잘 되는 곳에서 작업할 것을 권장합니다.
- 절차에는 단일 혈장 또는 혈청 검체를 처리하기 위한 지침이 명시되어 있습니다. 하지만 QIAvac 24 Plus 진공 시스템을 사용하면 동시에 최대 24 개의 검체를 처리할 수 있습니다.
- 이 키트는 체외 진단에 관한 실험실 운영 기준을 교육받은 사람만 사용해야 합니다.

QIAamp MinElute 컬럼의 취급

핵산 증폭 기술의 민감성 때문에 검체 준비 중의 교차 오염을 피하려면 QIAamp MinElute 컬럼을 취급할 때 다음과 같은 예방 조치가 필요합니다.

- 검체 또는 용액을 QIAamp MinElute 컬럼에 조심스럽게 넣습니다. 컬럼의 테두리에 묻지 않도록 주의하면서 검체를 QIAamp MinElute 컬럼에 피펫팅합니다.
- 액체를 옮긴 후에는 항상 피펫 팁을 교체하십시오. 에어로졸 장벽 피펫 팁을 사용하는 것이 좋습니다.
- 피펫 팁으로 QIAamp MinElute 막을 건드리지 마십시오.
- 한 번에 한 개의 QIAamp MinElute 컬럼만 개봉하고, 에어로졸이 생성되지 않도록 주의하십시오.

시약 및 완충액 준비

RNA 준비

바이러스 RNA 를 준비할 때는 절차의 수동 단계 중에 신속하게 작업하고, 시작하기 전에 42 페이지의 부록을 읽으십시오.

QIAGEN Protease (QP) 준비

4.4 ml 단백분해효소 용액(PS)이 들어있는 바이알의 내용물을 동결 건조된 QIAGEN Protease (QP)의 바이알에 넣고 부드럽게 혼합하십시오. 거품이 생기지 않도록 바이알을 여러 번 뒤집어서 혼합하십시오. QIAGEN Protease (QP)가 완전히 용해되어야 합니다.

QIAGEN Protease (QP)를 용해 완충액(AL)에 직접 넣지 마십시오 *.

용해 완충액 (AL)*에 운반체 RNA 및 내부 대조물질 넣기

QIAamp DSP Virus Kit 를 진단 증폭 시스템에 사용할 때는 내부 대조물질을 사용하는 것이 좋습니다. 자세한 정보는 제조사의 설명서를 참고하십시오. 내부 대조물질 및 재구성된 운반체 RNA 를 용해 완충액(AL)에 넣고 튜브를 10 번 뒤집어서 조심스럽게 혼합해야 합니다. 거품이 형성되지 않도록 볼텍싱하지 마십시오. 내부 대조물질을 사용하는 경우 용해 완충액(AL) 용량을 적절하게 줄입니다(자세한 내용은 표 1 참고).

제조사의 지침을 참고하여 내부 대조물질의 최적 농도를 결정하십시오. 농도가 권장값을 벗어날 시 결과가 부정확할 수 있습니다. 사용할 내부 대조군의 양을 정확히 계산하기 위해 검체의 시작 분량 및 용리양을 고려하십시오. QIAamp DSP Virus Kit 의 시작 분량은 500 µl 임을 명심하십시오.

운반체 RNA 용액을 준비하기 위해 용출 완충액(AVE) 310 µl 를 동결 건조된 운반체 RNA 310 µg 이 포함된 튜브에 첨가하여 1 µg/µl 의 용액을 만듭니다. 운반체 RNA 를 완전히 용해시키고 편리한 크기의 분주로 나눈 다음 –20°C 에서 보관합니다. 운반체 RNA 분주를 3 번을 초과해 동결-해동하지 마십시오.

운반체 RNA 는 용해 완충액(AL)에 용해되지 않습니다. 먼저 용출 완충액(AVE)에 용해한 후 용해 완충액(AL)에 넣으십시오. 운반체 RNA 를 용해 완충액(AL)와 혼합하기 전에 정확한 용량의 용출 완충액(AVE)에 완전히 용해했는지 확인하십시오.

* 카오트로픽 염을 함유하고 있습니다. 취급 시 적절한 실험실 안전 조치를 취하고 장갑을 착용하십시오. 표백제를 포함하는 소독제와 같이 사용할 수 없습니다. 안전성 정보는 14 페이지를 참고하십시오.

동시에 처리할 검체 수를 표 1 에서 선택하여 검체 배치당 필요한 용해 완충액(AL)/운반체 RNA 혼합물의 용량을 계산합니다. 용량은 다음과 같은 검체 계산을 사용하여 계산합니다.

n x 0.55 ml = **y** ml

y ml x 11.2 µl/ml = **z** µl

여기에서 **n** = 동시에 처리할 검체의 수

y = 계산한 용해 완충액(AL)의 용량

z = 용해 완충액(AL)에 넣을 운반체 RNA/용출 완충액(AVE)의 용량

튜브를 10 회 뒤집어서 조심스럽게 혼합합니다. 거품이 형성되지 않도록 볼텍싱하지 마십시오.

표 1. QIAamp DSP Virus 절차에 필요한 용해 완충액(AL) 및 운반체 RNA/용출 완충액(AVE)의 용량*

검체 수	AL*의 양(ml)	운반체 RNA/AVE 의 양(µl)	검체 수	AL*의 양(ml)	운반체 RNA/AVE 의 양(µl)
1	0.55	6.2	13	7.15	80.0
2	1.10	12.3	14	7.70	86.0
3	1.65	18.5	15	8.25	92.4
4	2.20	24.6	16	8.80	98.6
5	2.75	30.8	17	9.35	104.7
6	3.30	37.0	18	9.90	110.9
7	3.85	43.1	19	10.45	117.0
8	4.40	49.3	20	11.00	123.2
9	4.95	55.0	21	11.55	129.4
10	5.50	61.6	22	12.10	135.5
11	6.05	67.8	23	12.65	141.7
12	6.60	73.9	24	13.20	147.8

검체 준비 절차는 검체당 5.6 µg 의 운반체 RNA 에 최적화되었습니다. 사용자의 증폭 시스템에서 보다 적은 운반체 RNA 가 더 나은 것으로 확인되었다면 필요한 양의 용해된 운반체 RNA 만 용해 완충액(AL)가 들어 있는 튜브로 옮기십시오. 준비당 필요한 운반체 RNA 의 각 마이크로그램에서 용해 완충액(AL) ml 당 완충액 AVE-용해된 운반체 RNA 5 µl 를 첨가하십시오. 검체당 5.6 µg 미만의 운반체 RNA 를 사용하려면 각 특정 검체 유형 및 다운스트림 분석에 대해 검증해야 합니다.

* 내부 대조물질을 사용하는 경우 용해 완충액(AL) 용량을 적절하게 줄입니다.

세척 완충액 1(AW1) 준비 *

측정 실린더를 사용하여 에탄올(96-100%) 25ml 를 19 ml 의 세척 완충액 1(AW1) 농축액이 들어있는 병에 넣습니다. 라벨의 체크박스에 체크하여 에탄올이 추가되었음을 표시합니다. 재구성된 세척 완충액 1(AW1)을 실온(15-25°C)에서 보관하십시오.

ⓘ 절차를 시작하기 전에 항상 재구성된 세척 완충액 1(AW1)이 든 병을 여러 번 거꾸로 하여 혼합합니다.

세척 완충액 2(AW2) 준비 †

측정 실린더를 사용하여 에탄올(96–100%) 30 ml 를 13 ml 의 세척 완충액 2(AW2) 농축액이 들어있는 병에 넣습니다. 라벨의 체크박스에 체크하여 에탄올이 추가되었음을 표시합니다. 재구성된 세척 완충액 2(AW2)을 실온(15-25°C)에서 보관하십시오.

ⓘ 절차를 시작하기 전에 항상 재구성된 세척 완충액 2(AW2)이 든 병을 여러 번 거꾸로 하여 혼합합니다.

용출 완충액(AVE) 준비

본 키트에는 용출 완충액(AVE) 튜브 네 개가 제공됩니다. 완충액이 RNase 로 오염되지 않도록 주의하십시오. 한 개의 키트로 4 회 이하의 정제 절차를 수행하는 경우 각 절차가 완료될 때마다 용출 완충액(AVE) 튜브를 폐기하는 것이 좋습니다.

***** 카오트로픽 염을 함유하고 있습니다. 취급 시 적절한 실험실 안전 조치를 취하고 장갑을 착용하십시오. 표백제를 포함하는 소독제와 같이 사용할 수 없습니다. 안전성 정보는 14 페이지를 참고하십시오.

† 방부제 역할을 하는 아지드화 나트륨을 함유하고 있습니다.

QIAvac 24 Plus 진공 시스템 준비

컬럼 확장기(EXT), QIAamp MinElute 컬럼, VacConnector (VC) 및 VacValve 를 정확히 설정해야 합니다(그림 1 참고).

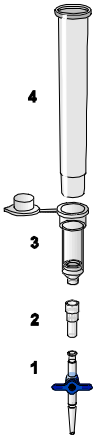


그림 1. 검체 진공 처리를 위한 QIAamp DSP Virus Kit 구성요소 조립:

1. VacValve(진공 시스템과 함께 제공)
2. VacConnector(VC)
3. QIAamp MinElute 컬럼
4. 컬럼 확장기(EXT)

QIAvac 24 Plus 진공 시스템 사용 시 검체가 섞이지 않도록 그림 2 에 표시된 방법에 따라 용해 튜브(LT), 용출 튜브(ET), QIAamp MinElute 컬럼에 라벨을 부착할 것을 권장합니다. 이 그림을 복사하여 검체명과 함께 라벨로 부착할 수 있습니다.

날짜: _____

사용자: _____

실행 ID: _____

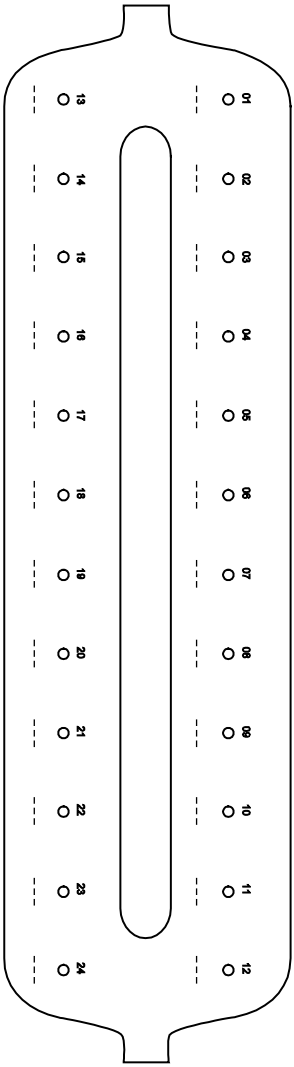


그림 2. QIAvac 24 Plus 진공 시스템에 사용 시 검체가 섞이지 않도록 용해 튜브(LT), 용출 튜브(ET), QIAamp MinElute 컬럼의 라벨 부착 방법.

프로토콜: 혈장 및 혈청에서 바이러스 핵산 분리 및 정화

500 µl 의 EDTA 또는 구연산 처리 혈장 및 혈청에서 바이러스 핵산을 분리 및 정화해야 합니다.

시작하기 전 해야 할 일

- 검체 온도가 실온(15-25°C)이 되도록 하고 잘 혼합되었는지 확인합니다.
- 모든 시약 및 QIAamp MinElute 컬럼(밀폐된 블리스터 내)이 실온 상태인지 확인합니다.
- 4 단계 및 17 단계에서 사용할 수 있도록 가열 블록을 56°C 으로 맞춥니다.
- 20 페이지의 "시작 전 중요 사항"에 따라 세척 완충액 1(AW1)과 세척 완충액 2(AW2) 및 QIAGEN Protease (QP)를 준비하도록 합니다.
- 용해 완충액(AL)에 침전물이 형성되었다면 56°C 에서 배양하여 용해시킵니다.
- 22 페이지의 설명에 따라 용출 완충액(AVE) 또는 내부 대조물질에서 재구성된 운반체 RNA 를 용해 완충액(AL)에 넣습니다.
- 가능하면 각 절차마다 신선한 용출 완충액(AVE)을 사용하십시오(튜브 4 개 제공).
- 교차 오염을 최소화하기 위해 진공 시스템의 각 루어 어댑터에 VacConnector(VC)를 삽입합니다.
- QIAGEN 의 정도 관리 절차에서는 각 개별 키트 로트에 대해 기능적 키트 출고 검사를 적용합니다. 따라서 서로 다른 키트 로트의 시약을 혼합하지 말고, 서로 다른 시약 로트의 개별 시약을 혼합하지 마십시오.
- 진공 시스템의 폐기물 용기는 비어 있어야 하며 모든 커플링은 올바르게 연결되어 있도록 합니다.
- 진공 시스템의 자세한 사용 설명 및 특히 유지보수 방법은 함께 제공된 안내서를 참고하십시오.

절차

1. 75 µl 의 QIAGEN Protease (QP)를 피펫으로 분리 튜브(LT)에 넣으십시오.

   재구성된 단백질분해효소를 사용하기 전에 유효기간을 확인하십시오.

2. 500 µl 의 혈장 또는 혈청을 분리 튜브(LT)에 넣으십시오.
3. 11.2 µg/ml 의 운반체 RNA 가 함유된 500 µl 의 용해 완충액(AL)를 용해 튜브(LT)에 넣고 뚜껑을 닫은 후 15 초 이상 펄스-볼텍싱하여 섞어줍니다.

   효율적인 용해를 위해서는 반드시 검체와 용해 완충액(AL)를 완전히 섞어서 균일한 용액을 만들어야 합니다.

   용해 완충액(AL)에는 내부 대조물질이 들어있습니다. 용해 완충액(AL)는 점성이 높으므로 조심스럽게 피펫팅하여 정확한 용량의 용해 완충액(AL)를 첨가해야 합니다.

   QIAGEN Protease (QP)를 용해 완충액(AL)에 직접 넣지 마십시오.

4. 56°C 에서 15 분 동안 배양합니다.
5. 용해 튜브(LT)를 ≥5 초 동안 최대 속도에서 원심분리하고 뚜껑 안쪽에서 액체 방울을 제거합니다.
6. 장갑을 교체하고 분리 튜브(LT)를 주의하여 열어주십시오.
7. 600 µl 의 에탄올(96–100%)을 분리 튜브(LT)에 넣고 뚜껑을 닫은 후 ≥15 초간 펄스 교반하여 완전히 섞어줍니다. 실온(15-25°C)에서 5 분 동안 배양합니다.
8. 용해 튜브(LT)를 ≥5 초 동안 최대 속도에서 원심분리하고 뚜껑 안쪽에서 액체 방울을 제거합니다.
9. QIAamp MinElute 컬럼을 진공 시스템의 VacConnector(VC)에 삽입합니다(26 페이지의 그림 1 참고). 컬럼 확장기(EXT)를 열린 QIAamp MinElute 컬럼에 넣으십시오.

   세척 튜브(WT)는 16 단계에서 건조 스핀하십시오.

10. 장갑을 교체하고 한 번에 1 개의 튜브만 개봉하십시오.
11. 7 단계에서 얻은 용해물 전체를 가장자리에 묻지 않도록 주의하여 QIAamp MinElute 컬럼의 컬럼 확장기(EXT)에 넣으십시오.
12. 진공 펌프를 켭니다. QIAamp MinElute 컬럼 통해 용해물이 옮겨지면 진공 시스템의 밸브를 열고 진공 압력을 배출하십시오.

    동시에 여러 개의 QIAamp MinElute 컬럼을 처리하는 경우에는 이 진공 단계의 시간을 단축하기 위해 용해물이 통과한 후 각 열의 VacValve 를 닫는 것이 좋습니다.

    15 분이 지나도 용해물이 막을 완전히 통과하지 못할 시에는 QIAamp MinElute 컬럼을 버리고 새 검체로 절차를 반복하십시오.

    진공 압력을 빠르게 배출하기 위해 진공 시스템 밸브를 사용해야 합니다.
13. 600 µl 의 세척 완충액 1(AW1)을 QIAamp MinElute 컬럼에 넣습니다. 컬럼 확장기(EXT)를 조심스럽게 분리하여 버리고 진공 시스템의 밸브를 닫으십시오. QIAamp MinElute 컬럼을 통해 세척 완충액 1(AW1)이 옮겨지면 밸브를 열고 진공 압력을 배출하십시오.

    교차 오염을 방지하기 위해 분리된 컬럼 확장기(EXT)가 인접한 QIAamp MinElute 컬럼 위를 지나가지 않도록 주의하십시오.
14. 가장자리에 묻지 않도록 주의하여 750 µl 의 세척 완충액 2(AW2)를 QIAamp MinElute 컬럼에 넣습니다. 컬럼의 뚜껑은 열어두고 진공 시스템의 밸브를 잠그십시오. QIAamp MinElute 컬럼을 통해 세척 완충액 2(AW2)이 옮겨지면 밸브를 열고 진공 압력을 배출하십시오.
15. 가장자리에 묻지 않도록 주의하여 750 µl 의 에탄올(96-100%)을 QIAamp MinElute 컬럼에 넣습니다. 컬럼의 뚜껑은 열어두고 진공 시스템의 밸브를 잠그십시오. QIAamp MinElute 컬럼을 통해 에탄올이 옮겨지면 밸브를 열고 진공 압력을 배출하십시오.

에어로졸 장벽 피펫 팁을 사용하여 에탄올을 QIAamp MinElute 컬럼에 넣으십시오.

16. QIAamp MinElute 컬럼의 뚜껑을 닫고 진공 시스템에서 분리한 후 VacConnector(VC)를 폐기하십시오. QIAamp MinElute 컬럼을 9 단계에서 보관한 세척 튜브(WT)에 넣고 최대 속도(약 20,000 *x g* 또는 14,000 rpm)로 1 분 동안 원심분리하여 막을 완전히 건조시킵니다. 여과액이 들어있는 세척 튜브(WT)는 폐기하십시오.

원심분리기를 이용한 건조 과정을 누락할 시 하향 분석항목이 억제될 수 있습니다.

17. QIAamp MinElute 컬럼을 새 세척 튜브(WT)에 넣고 56°C 에서 3 분간 뚜껑을 열어둔 상태로 배양하여 남은 액체를 증발시킵니다.

18. QIAamp MinElute 컬럼을 새 용출 튜브(ET)에 넣고 세척 튜브(WT)는 폐기합니다. QIAamp MinElute 컬럼의 뚜껑을 주의하여 열고 (다운스트림 분석에 따라) 막 중심부에 20 µl 또는 60 µl 의 용출 완충액(AVE)을 넣습니다.

잔류 세척 완충액으로 인해 오염되는 경우 다운스트림 분석이 억제될 수 있으므로 새 용출 튜브를 사용하는 것이 중요합니다.

막 중심부에 용출 완충액을 분주하는 것은 특히 적은 용출량에서 최적의 핵산과 용출 완충액을 회수하는 데 중요합니다.

용출량은 다운스트림 분석의 요구 사항에 따라 조절할 수 있습니다. 원심분리 후 스핀 컬럼 막에 유지되는 남은 용출 완충액으로 인해 회수되는 용출액 용량이 컬럼에 적용된 용출 완충액보다 적을 수 있습니다.

용출 완충액을 실온에 맞춥니다.

19. 뚜껑을 닫고 실온(15-25°C)에서 ≥3 분 동안 배양합니다. 최대 속도(약 20,000 *x g* 또는 14,000 rpm)에서 1 분 동안 원심분리하여 바이러스 핵산을 용출합니다.

용출 튜브 뚜껑이 로터의 회전 방향과 반대 방향으로 향하게 합니다(예: 로터가 시계 방향으로 회전하면 뚜껑을 시계 반대 방향에 맞춤).

본 프로토콜을 실시한 후에는 진공 시스템과 함께 제공된 안내서를 참고하여 유지보수 절차를 실시하십시오.

품질 관리

QIAGEN 의 인증받은 전체 품질 관리 시스템에 따라, QIAamp DSP Virus Kit 의 각 로트는 제품 품질의 일관성을 보장하기 위해 사전 결정된 사양에 대해 검사됩니다.

제한 사항

시스템 성능은 사람 혈장 및 혈청 검체에서 바이러스 핵산을 정제하는 성능 평가 연구에서 검증되었습니다.

사용자 실험실의 절차가 QIAGEN 성능 평가 연구의 범위 내에 속하지 않는 경우에 시스템 성능을 확인하는 작업은 사용자의 책임입니다.

진단 결과에 부정적인 영향을 미칠 위험을 최소화하려면 다운스트림 분석에 적절한 대조물질을 사용해야 합니다. 생성된 진단 결과는 다른 임상 소견이나 검사 결과와 함께 해석해야 합니다.

성능 특징

해당 성능 특징은 www.qiagen.com 의 해당 제품 리소스 탭에서 확인할 수 있습니다.

문제 해결 가이드

이 문제 해결 가이드는 발생 가능한 문제를 해결하는 데 도움을 줄 수 있습니다. 자세한 내용은 당사 기술 지원 센터의 FAQ(자주 묻는 질문) 페이지에서도 확인할 수 있습니다. www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. QIAGEN 기술 서비스 소속 과학자들이 본 안내서의 정보 및/또는 프로토콜 또는 검체 및 분석 기술에 대해 가질 수 있는 어떠한 질문이든 기쁘게 답변해 드리겠습니다(연락처 정보는 www.qiagen.com 참조).

의견 및 제안	
일반 취급	
a) 검체 이동 중 피펫 팁 막힘	냉동 검체가 해동 후 제대로 혼합되지 않았습니다. 냉동 검체를 부드럽게 교반하며 해동시켜 완전히 섞이게 합니다. 동결-해동 중에 형성되는 동결침전제제는 QIAamp MinElute 막을 막습니다. 동결침전제제가 육안으로 보이는 경우, 5 분 동안 16,000 *x g* 로 원심분리하여 검체가 맑아지게 합니다.
b) QIAamp MinElute 컬럼이 막힘	유속이 감소하는 경우 진공 시간을 연장하면 됩니다. 또는 (사용하는 경우) VacValve를 닫고, 컬럼 확장기 내 용해물이 소실되지 않도록 조심스럽게 컬럼 확장기–VacConnector–VacValve 조립체를 QIAamp MinElute 컬럼에서 제거합니다. QIAamp MinElute 컬럼을 진공 매니폴드에서 제거하고, 2 ml 세척 튜브(WT)에 넣은 후 최대 속도로 검체가 완전히 막을 통과할 때까지 회전시킵니다. 잔여 용해물이 들어 있는 컬럼 확장기–VacConnector–VacValve 조립체를 다시 배치합니다. 진공 펌프를 켜고, VacValves를 연 후, 계속해서 잔여 용해물을 로드합니다. QIAamp MinElute 컬럼이 계속해서 막히는 경우, 상기 절차를 반복합니다. 동결-해동 중에 형성되는 동결침전제제는 QIAamp MinElute 컬럼 막을 막습니다. 동결침전제제가 육안으로 보이는 경우, 5분 동안 16,000 *x g*로 원심분리하여 검체가 맑아지게 합니다.

		용해하는 동안 얼음으로 냉각한 에탄올을 사용하면 막이 막히는 위험을 줄이는 데 도움이 될 수 있습니다. 또한 용해 완충액을 위에 설명된 정확한 순서로 첨가해야 합니다. QIAGEN Protease (QP)를 용해 완충액(AL)에 직접 넣지 마십시오.
c)	용해 완충액에 침전물이 형성됨	용해 완충액(AL)를 56°C 에서 배양하여 용해시킵니다.
d)	용출량이 일정하지 않음	회수되는 용출액 용량은 검체의 성질에 따라 다릅니다. 원심분리 후 스핀 컬럼 막에 유지되는 남은 용출 완충액으로 인해 회수되는 용출액 용량이 컬럼에 적용된 용출 완충액 용량보다 적을 수 있습니다. 막 중심부에 용출 완충액을 적용하십시오. 막 중심부에 용출 완충액을 분주하는 것은 특히 적은 용출량에서 최적의 핵산과 용출 완충액을 회수하는 데 중요합니다.
e)	진공 압력이 -800 에서 -900 mbar 에 이르지 못함	진공 매니폴드가 단단히 닫혀 있지 않습니다. 진공을 켠 후 진공 매니폴드의 뚜껑을 아래로 누릅니다. 진공 압력에 도달했는지 확인합니다. QIAvac 뚜껑의 개스킷이 낡았습니다. 매니폴드의밀봉부를 육안으로 확인하고 필요 시 교체합니다. VacValves가 낡았습니다. 모든 VacValves를 제거하고 VacConnectors를 바로 루어 연장부에 삽입합니다. QIAamp MinElute 컬럼을 VacConnectors에 삽입하고 컬럼 뚜껑을 닫은 후 진공 기능을 켭니다. 진공 압력에 도달했는지 확인합니다. 필요 시 VacValves를 교체합니다. 진공 펌프 연결부에 누출이 있습니다. 루어 캡으로 모든 루어 연장을 닫고, 진공 펌프를 켭니다. 펌프가 켜진 후(그리고 Vacuum Regulator 밸브가 잠겨 있는 상태) 진공 압력이 안정적인지 확인합니다. 필요 시 펌프와 진공 매니폴드 간 연결부를 교체합니다. 여전히 진공 압력에 도달하지 못하면, 진공 펌프를 더 강력한 것으로 교체합니다.
다운스트림 반응에서 DNA 가 제대로 수행되지 않음		
a)	검체가 완전히 용해되지 않음	QIAGEN Protease (QP)는 장시간 고온에 노출되는 경우 활동성이 손실될 수 있습니다. 새 검체와 신선한 QIAGEN Protease (QP)로 절차를 반복합니다. 위 지침에 따라 QIAGEN Protease (QP)를 단백분해효소 용액으로 용해해야 합니다. 거품이 생기지 않도록 바이알을 여러 번 뒤집어서 혼합하십시오.

		QIAGEN Protease(QP)가 완전히 용해되었는지 확인합니다. QIAGEN Protease (QP)를 용해 완충액(AL)에 직접 넣지 마십시오. 효율적인 용해를 위해서는 반드시 검체와 용해 완충액(AL)를 완전히 섞어서 균일한 용액을 만들어야 합니다. 용해 완충액(AL)는 점성이 높으므로 주의하여 피펫팅하고 적절한 피펫을 사용하여 반드시 정확한 용량의 용해 완충액(AL)를 첨가해야 합니다.
b)	96-100%가 아닌 낮은 비율의 에탄올이 사용됨	새 검체와 96–100% 에탄올로 정제 절차를 반복합니다. 메탄올 또는 메틸에틸케톤과 같은 기타 물질을 함유한 변성 알코올은 사용하지 마십시오.
c)	세척 완충액 1(AW1) 또는 세척 완충액 2(AW2)가 잘못 준비됨	절차를 시작하기 전에 세척 완충액 1(AW1) 및 세척 완충액 2(AW2) 농축물을 정확한 용량의 96-100% 에탄올로 희석하고 병을 여러 번 뒤집어 혼합하십시오.
d)	혈장 및 혈청 검체가 정확하게 준비, 보관 또는 혼합되지 않음	이 정제 절차는 사람 혈장 및 혈청 검체에 사용하기에 적합합니다. 항응고제로 EDTA 또는 구연산염을 사용하여 처리한 혈액 검체는 혈장 정제에 사용할 수 있습니다. 혈장 또는 혈청 검체는 채취 및 원심분리 후 2-8°C 에서 최대 6 시간 동안 보관할 수 있습니다. 장기 보관하려면 분주하여 −80–−20°C 에서 동결하는 것이 좋습니다. 동결된 혈장이나 혈청을 여러 번 해동해서는 안됩니다. 반복적인 동결-해동은 단백질의 변성과 침전을 유도하여 바이러스 역가를 감소시키므로 바이러스 핵산의 수율을 떨어뜨립니다. 냉동 검체를 부드럽게 교반하며 해동시켜 완전히 섞이게 합니다.
e)	용출액 내 DNA 가 매우 적거나 없음	가능한 경우 용출량을 줄이거나 반응에 추가하는 용출액량을 늘리십시오.
f)	부적절한 용출량이 사용됨	다운스트림 공정에 적합한 용출액의 최대 용량을 결정하십시오. 다운스트림 공정에 더해지는 용출액 양을 그에 따라 줄이거나 늘리십시오. 용출량은 비례적으로 조절할 수 있습니다. 적은 용량의 완충액 AVE 로 용출하면 핵산 농도가 높아집니다.

g) 잠재적 억제제의 캐리오버

다운스트림 분석이 억제될 가능성을 배제하기 위해 용출하기 전에 건조 원심분리 단계를 수행하십시오.

잔류 세척 완충액으로 인해 오염되는 경우 다운스트림 분석이 억제될 수 있으므로 새 용출 튜브를 사용하는 것이 중요합니다.

QIAamp DSP Virus Kit 에 대한 전형적인 간섭 연구 및 ISO 20186-2:2019(E)에 따르면 채혈 튜브의 헤파린은 분리된 핵산의 순도에 영향을 미칠 수 있으며, 용출액으로의 캐리오버 가능성은 일부 다운스트림 분석에서 억제를 유발할 수 있습니다. 따라서 항응고제로 EDTA 또는 구연산염을 사용하여 처리한 혈액 검체를 사용하는 것이 좋습니다.

h) 운반체 RNA 가 잘못 분해/준비됨

운반체 RNA는 두 가지 작용을 합니다. 먼저 특히 검체에 목표 분자가 매우 적을 시 바이러스 핵산과 QIAamp 막 간의 고정력을 강화시켜 줍니다. 둘째, 드물기는 하지만 RNase 분자가 용해 완충액(AL)의 카오트로픽 염 및 세제에 의해 변성되지 않는 경우, 다량의 운반체 RNA를 첨가하면 바이러스 RNA 분해 가능성이 감소합니다.

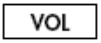
운반체 RNA를 용해 완충액(AL)에 첨가하지 않으면 바이러스 RNA 또는 DNA 회수 감소로 이어질 수 있습니다.

운반체 RNA는 완충액 AVE로만 용해할 수 있습니다. 용해된 운반체 RNA는 즉시 용해 완충액(AL)에 첨가해야 합니다.

또한 상용 다운스트림 분석의 일부 내부 대조물질 시약에도 운반체 RNA가 들어있을 수 있습니다. 이러한 경우 해당 하향 분석법의 제조사가 제공하는 관련 사용법을 확인하십시오.

기호

사용 설명서 또는 포장물 및 라벨에 다음과 같은 기호가 있을 수 있습니다.

기호	기호 정의
	<N>회 반응에 충분한 시약 포함
	사용 기한
	이 제품은 체외 진단 의료 기기에 대한 유럽 규정 2017/746 의 요구 사항을 충족합니다.
	체외 진단용 의료 기기
	카탈로그 번호
	로트 번호
	재료 번호(즉, 구성품 라벨)
	구성품
	용량
	내용물
	수
	국제 거래 단위 번호
Rn	R 은 사용 설명서의 개정 버전을 나타내며, n 은 개정 번호입니다

기호	기호 정의
	온도 제한
	제조업체
	사용 설명서 참조
	직사광선을 피할 것
	경고/주의
	도착 시
	중요 참고
	이 표시가 있는 프로토콜 단계를 수행한 후에는 장갑을 교체하십시오
	수령 시 개봉, QIAamp MinElute 컬럼을 2-8°C 에서 보관할 것
	병에 에탄올을 첨가한 후 현재 일자를 기록하십시오.

기호	기호 정의
ADD	추가
LYOPH	동결 건조됨
RCNS	재구성 용액
EtOH	에탄올
GuHCl	염산 구아니딘
MALEIC ACID	말레산
SUBT	서브틸리신
➡	다음 단계
UDI	의료기기 고유식별코드

부록

RNA 취급

리보핵산분해효소(RNase)는 매우 안정적이고 활성도 높은 효소로, 기능을 위해 일반적으로 보조 인자가 필요하지 않습니다. RNase 는 비활성화하기 어려우며, 아주 적은 양으로도 RNA 를 파괴할 수 있으므로 플라스틱 용기나 유리 용기를 사용하기 전에 반드시 RNase 오염을 제거해야 합니다. 분리 절차 중에 또는 그 이후에 RNase 가 우발적으로 RNA 검체에 혼입되지 않도록 주의해야 합니다. RNase 가 없는 환경을 만들고 유지하기 위해서는 RNA 를 갖고 작업할 때 전처리 그리고 일회용 및 비일회용 용기와 용액의 사용 중에 다음의 예방 조치를 취해야 합니다.

일반 취급

RNA 를 갖고 작업할 때는 항상 적절한 미생물학적 무균 기법을 사용해야 합니다. 손과 먼지 입자에는 박테리아와 곰팡이가 있을 수 있으며, RNase 오염의 가장 일반적인 원인입니다. 시약 및 RNA 검체를 취급할 때는 항상 라텍스나 비닐 장갑을 착용하여 피부 표면이나 먼지가 많은 실험실 장비로부터의 RNase 오염을 방지하십시오. 장갑을 자주 교체하고 튜브를 닫아 두십시오.

주문 정보

제품	목차	카탈로그 번호
QIAamp DSP Virus Kit (50)	50 회분: QIAamp MinElute 컬럼, 완충액, 시약, 튜브, 컬럼 확장기, VacConnectors	60704
부속품		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold	1–24 개의 스핀 컬럼 처리를 위한 진공 매니폴드: QIAvac 24 Plus 진공 매니폴드, 루어 플러그, 퀵 커플링	19413
Vacuum Pump	범용 진공 펌프	84020
VacConnectors	루어 커넥터에 QIAamp 스핀 컬럼과 함께 사용하는 500 개의 일회용 커넥터	19407
VacValves	QIAvac 24 및 QIAvac 24 Plus 용 밸브 24 개	19408
Vacuum Regulator	Vacuum Regulator	19530
QIAvac Connecting System	진공 매니폴드와 진공 펌프를 연결하는 시스템: 트레이, 폐기물 병, 튜브, 커플링, 밸브, 게이지, VacValves 24 개 포함	19419

최신 라이선스 정보 및 제품별 면책 사항은 각 QIAGEN 키트 사용 설명서를 참고하십시오. QIAGEN 키트 사용 설명서는 www.qiagen.com 에서 확인하거나 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 요청할 수 있습니다.

문서 개정 이력

개정판	설명
R1, 2022 년 6 월	버전 2, 개정본 1 ● IVDR 준수를 위해 키트 버전 2 로 업데이트 ● 용도 및 제한 사항 섹션 업데이트 ● 설명 및 원리 업데이트 ● 제공되는 품목(활성 성분 추가) 및 필요하지만 제공되지 않는 품목 업데이트 ● 경고 및 예방 조치 업데이트(긴급 정보 및 폐기 섹션 추가) ● 시약 보관 및 취급 업데이트 ● 시료의 채집, 보관 및 취급 업데이트 ● 중요 참고 및 절차 업데이트 ● 성능 특징 업데이트 ● 부록 섹션 추가 ● 문제 해결 가이드 추가 ● 기호 섹션 업데이트 ● 주문 정보 추가

이 페이지는 의도적으로 비어 있는 페이지입니다

이 페이지는 의도적으로 비어 있는 페이지입니다

이 페이지는 의도적으로 비어 있는 페이지입니다

QIAamp® DSP Virus Kit 의 제한적 라이선스 계약

본 제품의 사용은 다음 품목에 대한 모든 제품 구매자 또는 제품 사용자의 협약에 동의함을 의미합니다.

1. 이 제품은 오직 제품과 함께 제공된 프로토콜과 본 사용 설명서에 따라 사용해야 하며, 패널에 포함된 구성품만 함께 사용할 수 있습니다. QIAGEN 은 제품과 함께 제공된 프로토콜 및 본 사용 설명서, www.qiagen.com 에 제공된 추가 프로토콜에서 설명한 경우를 제외하고 지적 재산권에 따라 본 패널에 동봉된 구성품을 본 패널에 포함되지 않은 구성품과 통합하거나 사용하도록 라이선스를 부여하지 않습니다. 이러한 추가 프로토콜의 일부는 QIAGEN 사용자를 위해 QIAGEN 사용자가 제공한 것입니다. QIAGEN 에서 이 프로토콜을 철저히 검사하거나 최적화하지 않았습니다. QIAGEN 은 이를 보장하지 않으며 제 3 자의 권한을 침해하지 않는다는 것도 보증하지 않습니다.
2. 명시적으로 설명한 라이선스 이외에 QIAGEN 은 이 패널 및/또는 이 패널의 사용이 제 3 자의 권리를 침해하지 않음을 보증하지 않습니다.
3. 이 패널 및 구성품은 일회 사용에 대해 라이선스가 부여되며 재사용, 재정비 또는 재판매할 수 없습니다.
4. QIAGEN 은 명시적으로 설명한 경우 이외에 명시 또는 암시한 다른 라이선스는 명확히 부인합니다.
5. 패널의 구매자 및 사용자는 위에서 금지한 행위로 이어지거나 그러한 행위를 조장할 수 있는 조치를 취하거나 다른 사람이 그렇게 하도록 허용하지 않는다는 데 동의합니다. QIAGEN 은 모든 법정에서 이 제한적 라이선스 계약의 금지를 시행할 수 있으며, 패널 및/또는 해당 구성품과 관련된 이 제한적 라이선스 계약 또는 지적 재산권을 행사하는 데 필요한 모든 조치에서 변호사 비용을 포함하여 모든 조사 및 법정 비용을 회수할 수 있습니다.

업데이트된 라이선스 조항은 www.qiagen.com 을 참고하십시오.

상표: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®(QIAGEN 그룹). 이 문서에 사용된 등록된 이름, 상표 등은 별도로 표시되지 않은 경우에도 법적 보호를 받는 것으로 간주됩니다.

1127541KO 06/2022 HB-3032-001 © 2022 QIAGEN, 모든 권한 보유.

주문 **www.qiagen.com/shop** | 기술 지원 **support.qiagen.com** | 웹사이트 **www.qiagen.com**