

QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit — Instrukcja użycia (Instrukcja obsługi)



Wersja 3

IVD

Do diagnostyki in vitro

Do użytku z zestawem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

CE

REF

61104



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, NIEMCY

R1 **MAT**

1127543PL

Spis treści

Przeznaczenie.....	4
Docelowi użytkownicy.....	4
Opis i zasada procedury.....	5
Liza komórek krwi	5
Wiązanie genomowego DNA do membrany kolumny wirówkowej QIAamp Mini	5
Usuwanie pozostałości zanieczyszczeń.....	6
Elucja czystego genomowego DNA	6
Uzysk i jakość genomowego DNA	7
Zautomatyzowane oczyszczanie w aparacie QIAcube Connect MDx.....	7
Podsumowanie i objaśnienie.....	10
Dostarczane materiały.....	11
Zawartość zestawu	11
Składniki zestawu.....	12
Materiały wymagane, ale niedostarczane.....	13
Odczynniki dodatkowe	13
Materiały eksploatacyjne	13
Wyposażenie.....	13
Tylko dla procedury próżniowej.....	13
Tylko dla procedury zautomatyzowanej	14
Ostrzeżenia i środki ostrożności.....	15
Informacje dotyczące bezpieczeństwa	15
Środki ostrożności.....	16

Usuwanie	17
Przechowywanie i sposób postępowania z odczynnikami.....	18
Stabilność w trakcie użytkowania.....	18
Pobieranie, przechowywanie i sposób postępowania z próbkami	20
Ważne informacje.....	22
Ważne informacje przed rozpoczęciem protokołu.....	22
Przygotowanie odczynników i buforów.....	23
Sposób postępowania z kolumnami wirówkowymi QIAamp Mini	24
Ustawianie systemu próżniowego QIAvac 24 Plus	25
Procedura.....	27
Protokół: Izolacja i oczyszczanie genomowego DNA z próbek krwi za pomocą mikrowirówki lub zautomatyzowanej procedury oczyszczania w aparacie QIAcube Connect MDx	27
Protokół: Izolacja i oczyszczanie genomowego DNA z próbek krwi za pomocą systemu próżniowego	32
Kontrola jakości	38
Ograniczenia	39
Parametry skuteczności	40
Rozwiązywanie problemów	41
Symbole	45
Dane do zamówień.....	48
Historia zmian dokumentu	51

Przeznaczenie

Zestaw QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit to system, który wykorzystuje technologię membrany krzemionkowej (technologia QIAamp) do izolacji i oczyszczania genomowego DNA z próbek biologicznych.

Zestaw QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit jest przeznaczony do diagnostyki in vitro.

Docelowi użytkownicy

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

Opis i zasada procedury

Każda procedura QIAamp DSP DNA Blood Mini składa się z 4 etapów:

- liza komórek w próbce krwi;
- wiązanie genomowego DNA znajdującego się w lizacie komórkowym do membrany kolumny wirówkowej QIAamp Mini;
- płukanie membrany;
- elucja genomowego DNA z membrany.

Niniejsza instrukcja obsługi zawiera protokoły dla 2 alternatywnych procedur QIAamp DSP DNA Blood Mini: procedury wirówkowej wykonywanej przy użyciu wirówki lub, w przypadku wykonywania procedury w sposób zautomatyzowany, przy użyciu aparatu QIAcube® Connect MDx (Ryc. 1) oraz procedury próżniowej wykonywanej przy użyciu wirówki i systemu próżniowego (patrz schemat na stronie 9).

Liza komórek krwi

Próbki poddawane są lizie w warunkach denaturujących w podwyższonych temperaturach. Liza zachodzi w obecności proteazy QIAGEN® Protease (QP) i buforu do lizy (AL).

Wiązanie genomowego DNA do membrany kolumny wirówkowej QIAamp Mini

W celu optymalizacji wiązania genomowego DNA do membrany kolumny wirówkowej QIAamp Mini do lizatów dodaje się najpierw etanol. Każdy lizat nanosi się następnie na kolumnę wirówkową QIAamp Mini, a genomowe DNA ulega adsorpcji na membranie krzemionkowej w miarę przesączania lizatu pod wpływem ciśnienia próżni lub siły wirowania.

Usuwanie pozostałości zanieczyszczeń

Gdy genomowy DNA pozostaje związany z membraną kolumny wirówkowej QIAamp Mini, zanieczyszczenia są skutecznie wypłukiwane najpierw za pomocą buforu płuczącego 1 (AW1), a następnie buforu płuczącego 2 (AW2).

Elucja czystego genomowego DNA

Genomowy DNA jest eluowany z membrany kolumny wirówkowej QIAamp Mini za pomocą 50–200 µl buforu do elucji (AE). Eluowany DNA jest gotowy do użycia w różnych dalszych oznaczeniach, w tym różnorodnych dalszych oznaczeniach diagnostycznych *in vitro*. Bufor do elucji (AE) musi osiągnąć temperaturę pokojową (15–25°C) przed naniesieniem go na kolumnę.

Objętość odzyskanego eluatu może być mniejsza od objętości naniesionego na kolumnę buforu do elucji (AE) ze względu na zatrzymywanie buforu do elucji w membranie kolumny wirówkowej po wirowaniu. Objętość odzyskanego eluatu jest zależna od właściwości próbki. Eluowany DNA zebrany do probówek do elucji (ET) można przechowywać w temperaturze 2–8°C przez maksymalnie 4 tygodnie. W przypadku przechowywania długoterminowego zalecana jest temperatura –20°C.

Uwaga: Stabilność eluatu w dużym stopniu zależy od różnych czynników i odnosi się do konkretnej dalszej procedury analitycznej. Została ona oceniona dla zestawu QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit używanego w połączeniu ze standardowymi dalszymi procedurami analitycznymi. Obowiązkiem użytkownika jest zapoznanie się z instrukcjami wykonywania konkretnej dalszej procedury analitycznej przeprowadzanej w jego laboratorium i/lub zwalidowanie całego przebiegu pracy (z uwzględnieniem wszystkich procedur) w celu ustalenia odpowiednich warunków przechowywania.

Uzysk i jakość genomowego DNA

Wartość uzysku DNA zależy od próbki i jakości materiału początkowego. Elucja w mniejszych objętościach powoduje zwiększenie końcowego stężenia DNA w eluacie, ale nieznacznie obniża wartość łącznego uzysku DNA. Zalecane jest stosowanie objętości elucji odpowiedniej do zaplanowanych dalszych procedur analitycznych.

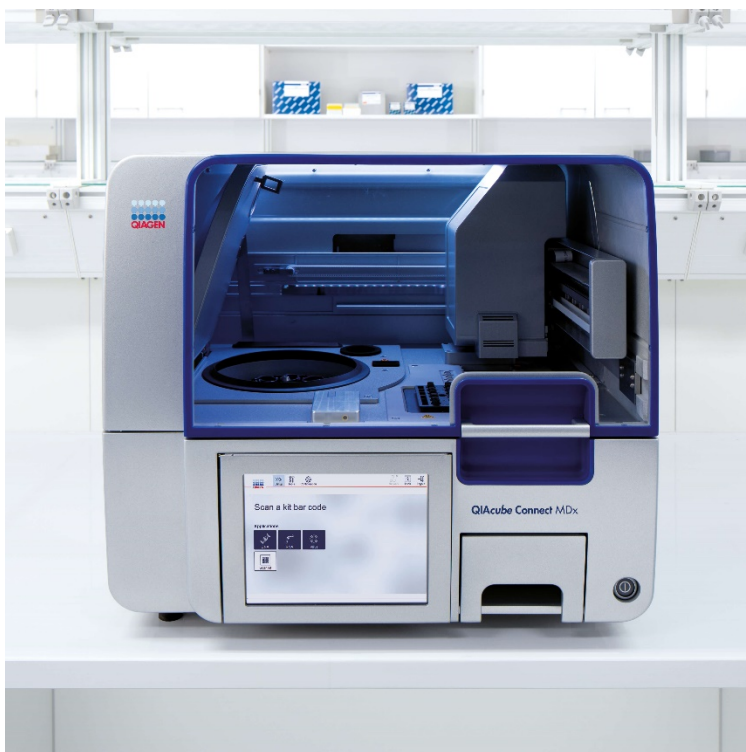
Uzysk i jakość wyizolowanego genomowego DNA są odpowiednie do dalszych procedur detekcji wykorzystywanych w diagnostyce molekularnej, takich jak reakcja PCR. Oznaczenia diagnostyczne należy wykonywać zgodnie z instrukcjami producenta.

Zautomatyzowane oczyszczanie w aparacie QIAcube Connect MDx

Etapy izolacji i oczyszczania kwasów nukleinowych w aparacie QIAcube Connect MDx są przeprowadzane w sposób zautomatyzowany. Aparat umożliwia przetwarzanie do 12 próbek w jednym cyklu.

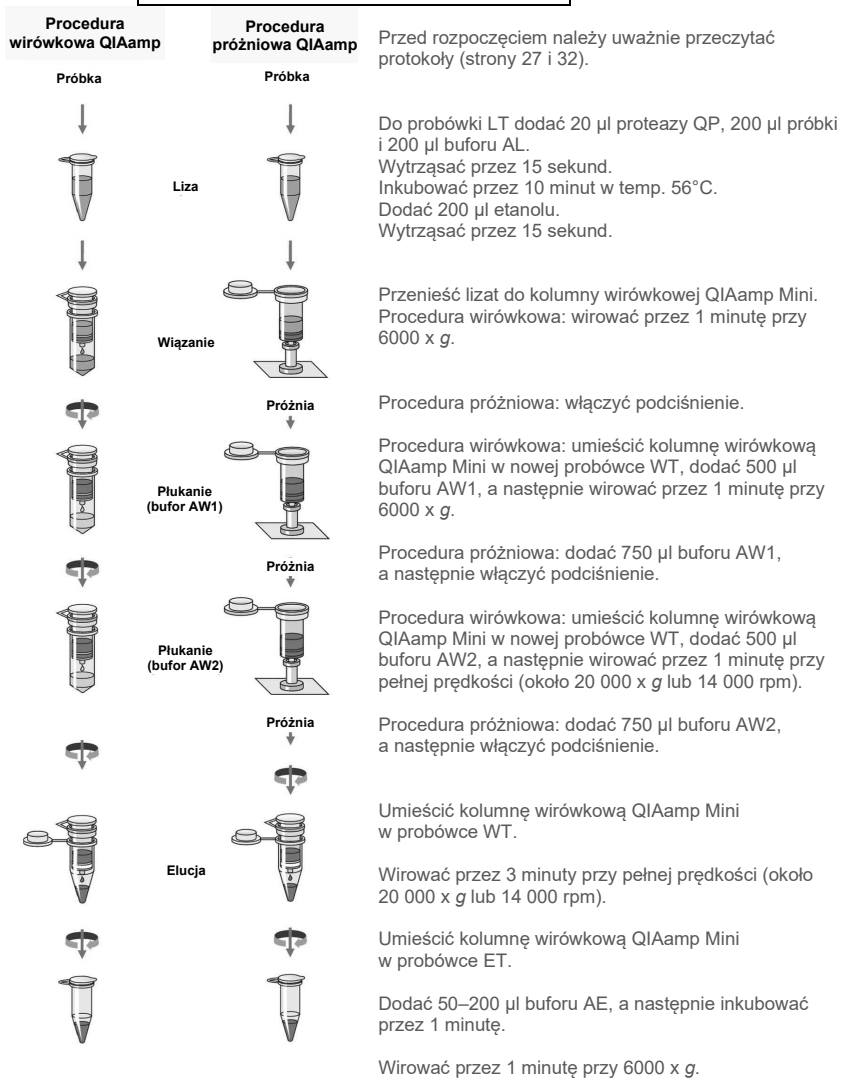
Przygotowanie próbek za pomocą aparatu QIAcube Connect MDx obejmuje te same etapy, co procedura ręczna (tzn. liżę, wiązanie, płukanie i elucję), umożliwiając użytkownikowi wykorzystanie zestawu QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit do oczyszczania w celu otrzymania DNA o wysokiej jakości również w tym przypadku.

W przypadku stosowania zestawu QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit w aparacie QIAcube Connect MDx w sposób zautomatyzowany aparat może przetworzyć mniej niż 50 próbek z powodu objętości martwych, parowania i dodatkowego zużycia odczynników wskutek zautomatyzowanego pipetowania. Firma QIAGEN gwarantuje 50 przygotowań próbek tylko w przypadku ręcznego stosowania zestawu QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.



Ryc. 1. Aparat QIAcube Connect MDx.

Procedura wirówkowa i próżniowa QIAamp DSP DNA Blood Mini



Podsumowanie i objaśnienie

Zestaw QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit wykorzystuje powszechnie znaną technologię, umożliwiając szybką i łatwą izolację i oczyszczanie genomowego DNA z próbek krwi pełnej o objętości 200 µl.

Procedury QIAamp DSP DNA Blood Mini przeznaczone do jednoczesnego przetwarzania wielu próbek krwi umożliwiają otrzymanie oczyszczonego DNA gotowego do użycia. Procedury te są odpowiednie do stosowania ze świeżymi lub mrożonymi próbkami krwi pełnej oraz krwi poddanej działaniu cytrynianu lub EDTA.

Nie jest konieczne wcześniejsze oddzielenie leukocytów. Procedury nie wymagają wykonywania izolacji za pomocą mieszaniny fenol/chloroform ani precypitacji w alkoholu i wymagają minimalnego udziału użytkownika, umożliwiając bezpieczne postępowanie z potencjalnie zakaźnymi próbkami. Procedury są zaprojektowane w taki sposób, aby zminimalizować możliwość zanieczyszczenia krzyżowego między próbkami. Oczyszczony DNA jest gotowy do użycia w oznaczeniach PCR lub na potrzeby innych zastosowań. DNA można również przechowywać długoterminowo w temperaturze -20°C .

Proste procedury wirówkowe i próżniowe QIAamp DSP są odpowiednie do przetwarzania wielu próbek jednocześnie. Niektóre procedury wirówkowe QIAamp można wykonywać w aparacie QIAcube Connect MDx w sposób w pełni zautomatyzowany — zapewnia to lepszą standaryzację procesu oraz ułatwia obsługę produktu (strona 7).

W przypadku procedury próżniowej protokół wymaga użycia kolektora próżniowego (np. QIAvac 24 Plus z systemem QIAvac Connecting System) i pompy próżniowej umożliwiającej wytworzenie podciśnienia o wartości ok. 800–900 mbar (np. QIAGEN Vacuum Pump). Należy używać regulatora podciśnienia Vacuum Regulator (część systemu QIAvac Connecting System) w celu łatwiejszego monitorowania wartości podciśnienia oraz wygodnego zwalniania podciśnienia.

Dostarczane materiały

Zawartość zestawu




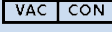
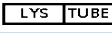
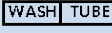
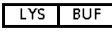
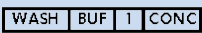

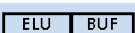
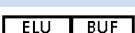


QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

Nr katalogowy

61104

Liczba przygotowań

50

	Produkt	Symbole	Ilość
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (QIAamp Mini Spin Columns z probówkami do płukania) (WT) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (Probówki do elucji) (1,5 ml)	 	50
VC	VacConnectors (Złącza VacConnector)		50
LT	Lysis Tubes (Probówki do lizy) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (Probówki do płukania) (2 ml)		3 x 50
AL	Lysis Buffer (Bufor do lizy)*		12 ml
AW1	Wash Buffer 1 (Bufor płuczający 1) [†] (koncentrat)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (Bufor płuczający 2) [†] (koncentrat)		13 ml
AE	Elution Buffer (Bufor do elucji) [‡]		25 ml
PS	Protease Solvent (Rozpuszczalnik proteazy) [‡]		2 ml
QP	QIAGEN Protease (Proteaza firmy QIAGEN) [§]		1 fiolka
-	Instrukcja użycia (Instrukcja obsługi)		1

* W przypadku stosowania zestawu QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit w aparacie QIAcube Connect MDx w sposób zautomatyzowany aparat może przetworzyć mniej niż 50 próbek z powodu objętości martwych, parowania i dodatkowego zużycia odczynników wskutek zautomatyzowanego pipetowania. Firma QIAGEN gwarantuje 50 przygotowań próbek tylko w przypadku ręcznego stosowania zestawu QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

[†] Zawiera chlorowoderek guanidyny. Produkt nie jest zgodny ze środkami dezynfekującymi zawierającymi wybielacz. Więcej informacji można znaleźć w części Informacje dotyczące bezpieczeństwa na stronie 15.

[‡] Zawiera azcydek sodu jako środek konserwujący.

[§] Objętość do przygotowywania zawiesiny wynosi 1,2 ml. Patrz część „Przygotowanie odczynników i buforów” na stronie 23.

Składniki zestawu

Główne składniki zestawu zawierające substancje aktywne zostały opisane poniżej.

Odczynnik	Składniki aktywne	Stężenie (w/w) [%]
QIAGEN Protease	Subtylizyna	od ≥ 0 do ≤ 100
AL	Chlorowodorek guanidyny Kwas maleinowy	od ≥ 30 do < 50 od $\geq 0,1$ do < 1
AW1	Chlorowodorek guanidyny	od ≥ 50 do < 70

Materiały wymagane, ale niedostarczane

Odczynniki dodatkowe

- Etanol (96–100%)*

Materiały eksploatacyjne

- Pipety[†] i końcówki do pipet (aby nie dopuścić do zanieczyszczenia krzyżowego, zdecydowanie zalecane jest używanie końcówek do pipet z barierami aerozolowymi)
- Rękawiczki jednorazowe

Wyposażenie

- Blok grzewczy[†] do lizy próbek w temperaturze 56°C (na mikropróbki testowe o pojemności 1,5 ml)
- Mikrowirówka[†]
- Cylinder miarowy (50 ml)
- Wytrząsarka

Tylko dla procedury próżniowej

- System próżniowy QIAvac 24 Plus (nr kat. 19413) lub odpowiednik[†]
- VacValves (nr kat. 19408)
- QIAvac Connecting System (nr kat. 19419)
- Vacuum Pump (nr kat. 84020)
- Vacuum Regulator (nr kat. 19530)

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

[†] W celu zapewnienia właściwego przetwarzania próbek w procedurach QIAamp DSP DNA Blood Mini zdecydowanie zalecane jest, aby sprzęt (np. pipety i bloki grzewcze) był sprawdzany i kalibrowany zgodnie z zaleceniami producenta.

Tylko dla procedury zautomatyzowanej

- Aparat QIAcube Connect MDx (nr kat. 9003070)*
- Rotor Adapters (nr kat. 990394)
- Rotor Adapter Holder (nr kat. 990392)
- Sample Tubes CB (nr kat. 990382; probówka na próbkę wejściową)
- Shaker Rack Plugs (nr kat. 9017854)
- Reagent Bottles, 30 ml (nr kat. 990393)
- Filter Tips, 1000 µl (nr kat. 990352)
- Filter Tips, 200 µl (nr kat. 990332)
- SafeSeal Tube, 1,5 ml (Sarstedt®, nr kat. 72.706)

* W celu zapewnienia właściwego przetwarzania próbek w procedurach QIAamp DSP DNA Blood Mini zdecydowanie zalecane jest, aby sprzęt (np. pipety i bloki grzewcze) był sprawdzany i kalibrowany zgodnie z zaleceniami producenta.

Ostrzeżenia i środki ostrożności


Należy pamiętać, że może być wymagane zapoznanie się z lokalnymi przepisami dotyczącymi zgłaszania poważnych incydentów, które wystąpiły w związku z wyrobem, producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz właściwemu organowi państwa, którego rezydentem jest użytkownik i/lub pacjent.

Do diagnostyki in vitro.

Przed użyciem zestawu należy uważnie przeczytać wszystkie instrukcje.

Informacje dotyczące bezpieczeństwa

Podczas pracy ze środkami chemicznymi należy zawsze nosić odpowiedni fartuch laboratoryjny, rękawiczki jednorazowe i okulary ochronne. 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. Na tej stronie można wyszukiwać, wyświetlać i drukować karty charakterystyki dla wszystkich zestawów i składników zestawów firmy QIAGEN.

<p>PRZESTROGA</p> 	<p>NIE dolewać wybielacza ani roztworów kwasowych bezpośrednio do odpadów powstałych po przygotowaniu próbek.</p>
--	---

- Bufor do lizy (AL) i bufor płuczący 1 (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 (o/o) 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 DNA Blood Mini 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 dotyczącymi bezpieczeństwa.
- Próbkki są potencjalnie zakaźne. Pozostałości próbek i odczynników używanych do oznaczenia należy utylizować zgodnie z lokalnymi procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa.

Informacje dotyczące nagłych przypadków

CHEMTREC

USA i Kanada: 1-800-424-9300

Poza obszarem USA i Kanady: +1 703-527-3887

Środki ostrożności

Do składników zestawu QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit mają zastosowanie następujące zwroty informujące o zagrożeniach i kwestiach dotyczących bezpieczeństwa.

Bufor AL



Zawiera: chlorowodorek guanidyny i kwas maleinowy. Ostrzeżenie! Może działać szkodliwie po połknięciu lub w następstwie wdychania. Działa drażniąco na skórę. Może powodować reakcję alergiczną skóry. Powoduje poważne podrażnienie oczu. Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub z lekarzem. W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. Zdjąć zanieczyszczoną odzież i wyprać ją przed ponownym użyciem. Zawartość/pojemnik usuwać, przekazując do zatwierzonego punktu usuwania odpadów.

Bufor AW1



Zawiera: chlorowodorek guanidyny. Ostrzeżenie! Działa szkodliwie po połknięciu lub w następstwie wdychania. Działa drażniąco na skórę. Powoduje poważne podrażnienie oczu. Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. Zdjąć zanieczyszczoną odzież i wyprać ją przed ponownym użyciem. Zawartość/pojemnik usuwać, przekazując do zatwierzonego punktu usuwania odpadów.

QIAGEN Protease



Zawiera: subtylizynę. Niebezpieczeństwo! Działa szkodliwie po połknięciu. Działa drażniąco na skórę. Powoduje poważne uszkodzenie oczu. Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania. Może powodować podrażnienie dróg oddechowych. Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. Stosować indywidualne środki ochrony dróg oddechowych. W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie. W PRZYPADKU narażenia lub problemów: Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUCI lub lekarzem. Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania.

Usuwanie

Odpady zawierają materiał próbek i odczynniki. Odpady mogą zawierać toksyczny lub zakaźny materiał i należy je usuwać w odpowiedni sposób. Informacje o odpowiednich procedurach usuwania odpadów są zawarte w lokalnych przepisach dotyczących bezpieczeństwa.

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z odpowiednimi kartami charakterystyki (Safety Data Sheet, SDS). Są one dostępne online w formacie PDF pod adresem www.qiagen.com/safety. Na tej stronie można wyszukiwać, wyświetlać i drukować karty charakterystyki dla wszystkich zestawów i składników zestawów firmy QIAGEN.

Przechowywanie i sposób postępowania z odczynnikami

Należy zwrócić uwagę na daty ważności oraz informacje o warunkach przechowywania wydrukowane na opakowaniach i etykietach wszystkich składników. Nie należy używać składników z przekroczonym terminem ważności ani niewłaściwie przechowywanych.

Po dostarczeniu kolumn wirówkowych QIAamp Mini do placówki należy je przechowywać w temperaturze 2–8°C i zużyć do daty ważności podanej na opakowaniu zestawu.

Uwaga: Aby nie dopuścić do pomieszania składników pochodzących z różnych zestawów, kolumny wirówkowe QIAamp Mini należy oznaczyć odpowiednim numerem serii zestawu.

Wszystkie bufony można przechowywać w temperaturze pokojowej (15–25°C) do daty ważności podanej na opakowaniu zestawu.

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

Stabilność w trakcie użytkowania

Zrekonstruowana proteaza QIAGEN Protease (QP) przechowywana w temperaturze 2–8°C jest stabilna przez maksymalnie 1 rok, ale nie dłużej niż do daty ważności zestawu. Należy unikać przechowywania roztworu podstawowego proteazy QIAGEN Protease (QP) w temperaturze pokojowej przez dłuższy czas.

Zrekonstruowany bufor płuczący 1 (AW1) i zrekonstruowany bufor płuczący 2 (AW2) przechowywane w temperaturze pokojowej (15–25°C) są stabilne przez maksymalnie 1 rok, ale nie dłużej niż do daty ważności zestawu.

W celu przygotowania buforów do procedury zautomatyzowanej należy postępować zgodnie z instrukcjami zawartymi w *Podręczniku użytkownika aparatu QIAcube Connect MDx* (dostępnym na stronie produktu pod adresem www.qiagen.com, na karcie Resource (Materiały źródłowe)).

Pobieranie, przechowywanie i sposób postępowania z próbkami

Uwaga: Stabilność próbki w dużym stopniu zależy od różnych czynników i odnosi się do konkretnej dalszej procedury analitycznej. Została oceniona dla standardowych dalszych procedur analitycznych. Obowiązkiem użytkownika jest zapoznanie się z instrukcjami wykonywania konkretnej dalszej procedury analitycznej przeprowadzanej w jego laboratorium i/lub zwalidowanie całego przebiegu pracy (z uwzględnieniem wszystkich procedur) w celu ustalenia odpowiednich warunków przechowywania.

Ogólne zalecenia dotyczące pobierania, transportu i przechowywania próbek można znaleźć w wytycznej MM13-A „Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods” instytutu CLSI. Ponadto podczas przygotowywania, przechowywania i transportu próbek oraz ogólnego postępowania z próbkami należy przestrzegać instrukcji producenta używanego wyrobu do pobierania próbek. Niezależnie od instrukcji producenta probówek do pobierania krwi, podczas izolacji genomowego DNA z próbek pełnej krwi żyłnej należy wziąć pod uwagę zalecenia zawarte w normie ISO 20186-2:2019 (E).

Uwaga: Zgodnie z normą ISO 20186-2:2019(E) heparyna pochodząca z probówek do pobierania krwi może wpływać na czystość izolowanych kwasów nukleinowych, a w przypadku jej ewentualnego przeniesienia do eluatów może wykazywać właściwości inhibicyjne w dalszych procedurach analitycznych. Dlatego zalecane jest, aby używać próbek krwi, w przypadku których jako antykoagulant zastosowano EDTA lub cytrynian.

Jeśli używane są świeże próbki krwi z probówek pierwotnych, przed ich przeniesieniem należy je dokładnie wymieszać (np. kilka razy odwracając probówkę). Zamrożone próbki (poddane maksymalnie 3 cyklom zamrażania-rozmrażania) należy szybko rozmrozić w łaźni wodnej ustawionej na temperaturę 37°C z delikatnym wstrząsaniem, aby zapewnić ich dokładne wymieszanie, a następnie przed rozpoczęciem procedury należy doprowadzić je do temperatury pokojowej (15–25°C). Nie należy używać próbek krwi, które były zamrażane i rozmrażane więcej niż 3 razy. Aby przenieść prawidłową objętość próbki, należy uważać, aby w probówkach nie doszło do wytworzenia piany. Podczas przenoszenia próbek należy unikać skrzepów krwi występujących w próbkach i przenosić materiał niezawierający skrzepów. Krioprecypitaty powstałe podczas rozmrażania zamrożonych próbek zatykają membranę kolumny wirówkowej QIAamp Mini i mogą zakłócić przebieg zautomatyzowanej procedury wykonywanej w aparacie QIAcube Connect MDx. Jeśli krioprecypitaty są widoczne, nie należy ich aspirować.

Uzysk i jakość oczyszczonego DNA zależą od warunków przechowywania krwi. Dla świeższych próbek krwi można otrzymać lepsze wyniki. W przypadku przechowywania krótkoterminowego, wynoszącego maksymalnie 10 dni, zalecane jest przechowywanie w temperaturze 2–8°C. W przypadku zastosowań, dla których wymagany jest maksymalny rozmiar fragmentu, takich jak hybrydyzacja Southerna, zalecane jest jednak, aby próbki były przechowywane w temperaturze 2–8°C przez maksymalnie 3 dni, ponieważ po upływie tego czasu DNA w niewielkim stopniu ulega degradacji. W przypadku przechowywania długoterminowego, przekraczającego 10 dni, krew należy pobrać do probówek zawierających standardowy antykoagulant (najlepiej EDTA, jeśli wymagany jest DNA o dużej masie cząsteczkowej) i przechowywać ją w temperaturze –20 lub –80°C.

Ważne informacje

Ważne informacje przed rozpoczęciem protokołu

- 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 „Informacje dotyczące bezpieczeństwa” (strona 15). Nie używać uszkodzonych składników zestawu, ponieważ ich użycie może prowadzić do obniżenia skuteczności zestawu.
- Należy zawsze zmieniać końcówki do pipet pomiędzy przenoszeniami płynów. W celu zminimalizowania prawdopodobieństwa zanieczyszczenia krzyżowego zalecamy stosowanie końcówek do pipet z barierą aerozolową.
- Podczas całej procedury należy zawsze używać rękawiczek jednorazowych i regularnie sprawdzać, czy nie są zanieczyszczone materiałem próbki. W przypadku zanieczyszczenia rękawiczek należy je wyrzucić.
- W celu zminimalizowania prawdopodobieństwa zanieczyszczenia krzyżowego należy otwierać tylko jedną próbkę naraz.
- Po wszystkich etapach wytrząsania pulsacyjnego krótko odwirować próbki mikrowirówkowe, aby usunąć krople z wnętrza wieczek. Obowiązkiem użytkownika jest zapewnienie identyfikowalności próbek podczas całej procedury.
- Wszystkie etapy wirowania należy przeprowadzać w temperaturze pokojowej (15–25°C).
- Z używanym zestawem nie należy używać składników pochodzących z innych zestawów, chyba że numery serii tych zestawów są identyczne z numerem używanego zestawu.
- Należy unikać skażenia mikrobiologicznego składników zestawu.
- W celu zminimalizowania ryzyka zakażenia w wyniku kontaktu z materiałem potencjalnie zakaźnym zalecamy pracę w warunkach laminarnego przepływu powietrza do czasu lizy próbek.
- Zestaw powinien być stosowany wyłącznie przez personel przeszkolony w zakresie laboratoryjnych procedur diagnostyki in vitro.

Przygotowanie odczynników i buforów

- Przygotowanie proteazy QIAGEN Protease

Dodać 1,2 ml rozpuszczalnika proteazy (PS) do fiolki z liofilizowaną proteazą QIAGEN Protease (QP) i ostrożnie wymieszać. Aby uniknąć spieniania, wymieszać zawartość fiolki, odwracając ją kilka razy. Upewnić się, że proteaza QIAGEN Protease (QP) jest całkowicie rozpuszczona.

Ważne: Nie dodawać proteazy QIAGEN Protease (QP) bezpośrednio do buforu do lizy (AL).

- Przygotowanie buforu płuczącego 1

Za pomocą cylindra miarowego należy dodać 25 ml etanolu (96–100%) do butelki zawierającej 19 ml koncentratu buforu płuczącego 1 (AW1). Zrekonstruowany bufor płuczący 1 (AW1) należy przechowywać w temperaturze pokojowej (15–25°C).

Ważne: Przed rozpoczęciem procedury należy zawsze wymieszać zrekonstruowany bufor płuczący 1 (AW1), odwracając butelkę kilka razy.

- Przygotowanie buforu płuczącego 2

Za pomocą cylindra miarowego należy dodać 30 ml etanolu (96–100%) do butelki zawierającej 13 ml koncentratu buforu płuczącego 2 (AW2). Zrekonstruowany bufor płuczący 2 (AW2) należy przechowywać w temperaturze pokojowej (15–25°C).

Ważne: Przed rozpoczęciem procedury należy zawsze wymieszać zrekonstruowany bufor płuczący 2 (AW2), odwracając butelkę kilka razy.

- Przygotowanie buforu do elucji

W zestawie dostarczono jedną butelkę buforu do elucji (AE). Aby uniknąć zanieczyszczenia buforu do elucji (AE), zdecydowanie zalecamy używanie końcówek do pipet z barierami aerozolowymi podczas pipetowania buforu do elucji (AE) z butelki oraz zamykanie butelki zatyczką niezwłocznie po zakończeniu pipetowania.

Ważne: Bufor do elucji (AE) zawiera środek konserwujący w postaci azydku sodu, który wykazuje absorbancję przy 260 nm. Z tego względu podczas oznaczania ilościowego DNA w eluacie za pomocą pomiaru absorbancji przy 260 nm, podczas określania czystości DNA w eluacie za pomocą pomiaru absorbancji przy 260 nm i 280 nm oraz podczas skanowania widma w zakresie od 220 nm do 350 nm, należy upewnić się, że stężenie azydku sodu w próbce ślepej jest takie samo jak w eluacie. Na przykład jeśli eluat do pomiarów absorbancji został przygotowany poprzez rozcieńczenie 50 µl eluatu w 100 µl wody, należy przygotować próbę ślepa, rozcieńczając 50 µl buforu do elucji (AE) przy użyciu 100 µl wody. Do rozcieńczeń należy używać świeżej wody destylowanej.

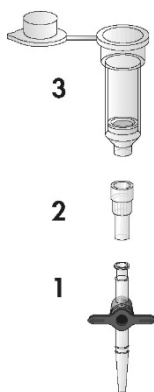
Sposób postępowania z kolumnami wirówkowymi QIAamp Mini

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

- Ostrożnie nanosić próbkę lub roztwór na kolumnę wirówkową QIAamp Mini. Próbkę przenieść pipetą do kolumny wirówkowej QIAamp Mini, uważając, aby nie zamoczyć brzegu kolumny.
- Unikać dotykania membrany kolumny wirówkowej QIAamp Mini końcówką pipety.
- Otwierać tylko jedną kolumnę wirówkową QIAamp Mini naraz i zachować ostrożność, aby uniknąć wytwarzania aerozoli.

Ustawianie systemu próżniowego QIAvac 24 Plus

Należy upewnić się, że prawidłowo ustawiono kolumnę wirówkową QIAamp Mini, złącze VacConnector (VC) oraz zawór VacValve (patrz Ryc. 2).



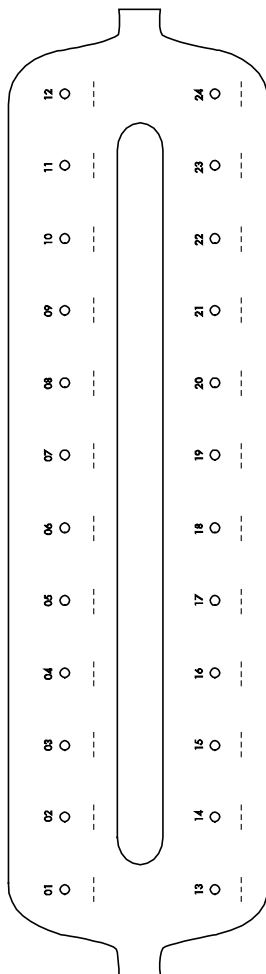
Ryc. 2. Montaż elementów zestawu QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit do próżniowego przetwarzania próbek. (1) zawór VacValve, (2) złącze VacConnector (VC) i (3) kolumna wirówkowa QIAamp Mini.

W przypadku stosowania procedury próżniowej z wykorzystaniem systemu próżniowego QIAvac 24 Plus zalecane jest oznaczenie probówek do lizy (LT), probówek do elucji (ET) oraz kolumn wirówkowych QIAamp Mini zgodnie ze schematem przedstawionym na Ryc. 3 (patrz kolejna strona), aby uniknąć pomylenia próbek. Można skopiować tę rycinę i oznaczyć ją nazwami próbek. Zalecamy używanie podobnego schematu w przypadku stosowania innych systemów próżniowych lub procedury wirówkowej.

Data: _____

Operator: _____

Id. cyklu: _____



Ryc. 3. Schemat oznaczania próbek do lizy (LT), próbek do elucji (ET) i kolumn wirówkowych QIAamp Mini do stosowania w systemie próżniowym QIAvac 24 Plus.

Procedura

Protokół: Izolacja i oczyszczanie genomowego DNA z próbek krwi za pomocą mikrowirówki lub zautomatyzowanej procedury oczyszczania w aparacie QIAcube Connect MDx

Służy do izolacji i oczyszczania genomowego DNA z poddanych działaniu EDTA lub cytrynianu próbek krwi pełnej o objętości 200 µl za pomocą mikrowirówki lub w sposób zautomatyzowany w aparacie QIAcube Connect MDx.

Ważne informacje przed rozpoczęciem procedury

- Poniższa procedura zawiera instrukcje dotyczące przetwarzania pojedynczej próbki krwi. Możliwe jest jednak przetwarzanie wielu próbek jednocześnie; liczba ta zależy od pojemności używanej mikrowirówki.
- W aparacie QIAcube Connect MDx można w sposób zautomatyzowany przetworzyć 2–10 próbek lub 12 próbek.
- W przypadku procedury zautomatyzowanej należy postępować zgodnie z instrukcjami wyświetlanymi przez interfejs użytkownika (aparat QIAcube Connect MDx) oraz zapoznać się z *Podręcznikiem użytkownika aparatu QIAcube Connect MDx* (dostępnym na stronie produktu pod adresem www.qiagen.com, na karcie Resource (Materiały źródłowe)).






Czynności do wykonania przed rozpoczęciem procedury


- Doprowadzić próbki krwi do temperatury pokojowej i upewnić się, że są dobrze wymieszane.
- Upewnić się, że wszystkie odczynniki i kolumny mikrowirówkowe QIAamp Mini (w zamkniętych blistrach) osiągnęły temperaturę pokojową.


- Ustawić blok grzewczy na temperaturę 56°C do użycia w kroku 4 (czynność wymagana w przypadku procedury ręcznej oraz procedury zautomatyzowanej z etapem lizy wykonywanym ręcznie poza aparatem).
- Upewnić się, że bufor płuczący 1 (AW1), bufor płuczący 2 (AW2) i proteaza QIAGEN Protease (QP) zostały przygotowane zgodnie z instrukcjami w części „Przygotowanie odczynników i buforów” na stronie 23.
- Jeśli w buforze do lizy (AL) wytrącił się precypitat, należy go rozpuścić, inkubując bufor w temperaturze 56°C.
- Procedury kontroli jakości firmy QIAGEN obejmują testowanie działania zestawów przed ich wprowadzeniem na rynek, wykonywane dla każdej serii zestawów. Z tego względu nie należy mieszać odczynników pochodzących z różnych serii zestawów ani łączyć poszczególnych odczynników o różnych numerach serii.

Procedura

- W przypadku stosowania procedury ręcznej przy użyciu mikrowirówki wykonać kroki 1–15.
 - Procedurę można zautomatyzować na 3 różne sposoby:
 - Objętość elucji: 100 µl, pełna automatyzacja (procedura zautomatyzowana rozpoczyna się od kroku 1)
 - Objętość elucji: 200 µl, pełna automatyzacja (procedura zautomatyzowana rozpoczyna się od kroku 1)
 - Liza ręczna: częściowa automatyzacja z etapem lizy wykonywanym ręcznie poza aparatem oraz dostępnymi objętościami elucji wynoszącymi 100–200 µl (przyrosty co 10 µl) (procedura zautomatyzowana rozpoczyna się od kroku 5)
1. Za pomocą pipety przenieść 20 µl proteazy QIAGEN Protease (QP) do próbki do lizy (LT).
 - ⓘ Przed użyciem należy sprawdzić datę ważności zrekonstruowanej proteazy.
 2. Dodać 200 µl próbki krwi do próbki do lizy (LT).

3. Dodać 200 µl buforu do lizy (AL) do próbki do lizy (LT), zamknąć wieczko i wymieszać, wytrząsając pulsacyjnie przez ≥ 15 s.
 -  Aby zapewnić skuteczną lizę, kluczowe jest, aby próbka i bufor do lizy (AL) były dobrze wymieszane i tworzyły jednorodny roztwór.
 -  Ze względu na to, że bufor do lizy (AL) ma dużą lepkość, należy upewnić się, że dodano odpowiednią objętość buforu, ostrożnie pipetując lub stosując pipetę ustawioną na odpowiednią objętość.
 -  Nie dodawać proteazy QIAGEN Protease (QP) bezpośrednio do buforu do lizy (AL).
4. Inkubować w temperaturze 56°C przez 10 minut.
5. Odwirować próbkę do lizy (LT) przez ≥ 5 s przy pełnej prędkości, aby usunąć krople z wnętrza wieczka.
 -  Jeśli lizę ręczną wykonano poza aparatem (kroki 1–5), kolejne kroki (kroki 6–15) można wykonać w aparacie QIAcube Connect MDx w sposób zautomatyzowany przy użyciu protokołu do lizy ręcznej.
6. Dodać 200 µl etanolu (96–100%) do próbki do lizy (LT), zamknąć wieczko i dokładnie wymieszać, wytrząsając pulsacyjnie przez ≥ 15 s.
7. Odwirować próbkę do lizy (LT) przez ≥ 5 s przy pełnej prędkości, aby usunąć krople z wnętrza wieczka.
8. Ostrożnie nanieść cały lizat z kroku 7 do kolumny wirówkowej QIAamp Mini bez zamaczania jej brzegu. Unikać dotykania membrany kolumny wirówkowej QIAamp Mini końcówką pipety.
 -  W przypadku przetwarzania wielu próbek należy otwierać tylko jedną próbkę do lizy (LT) naraz.
9. Zamknąć wieczko kolumny wirówkowej QIAamp Mini i wirować przy około 6000 x g przez 1 minutę. Umieścić kolumnę wirówkową QIAamp Mini w czystej próbce do płukania (WT) i wyrzucić próbkę zawierającą przesącz.

 Jeśli lizat nie przeszedł całkowicie przez membranę po odwirowaniu przy 6000 x g (8000 rpm), należy ponownie wirować kolumnę przy maksymalnej prędkości (do 20 800 x g) przez 1 minutę.

 Jeśli lizat nadal nie przechodzi przez membranę podczas wirowania, wyrzucić próbkę i powtórzyć izolację i oczyszczanie, używając nowego materiału próbki, poczynawszy od kroku 1 na stronie 28.


10. Ostrożnie otworzyć kolumnę wirówkową QIAamp Mini i dodać 500 µl buforu płuczającego 1 (AW1), uważając, aby nie zamoczyć brzegu kolumny. Unikać dotykania membrany kolumny wirówkowej QIAamp Mini końcówką pipety.

11. Zamknąć wieczko kolumny wirówkowej QIAamp Mini i wirować przy około 6000 x g przez 1 minutę. Umieścić kolumnę wirówkową QIAamp Mini w czystej próbówce do płukania (WT) i wyrzucić próbkę zawierającą przesącz.

12. Ostrożnie otworzyć kolumnę wirówkową QIAamp Mini i dodać 500 µl buforu płuczającego 2 (AW2), uważając, aby nie zamoczyć brzegu kolumny. Unikać dotykania membrany kolumny wirówkowej QIAamp Mini końcówką pipety.

13. Zamknąć wieczko kolumny wirówkowej QIAamp Mini i wirować przy pełnej prędkości (około 20 000 x g lub 14 000 rpm) przez 1 minutę. Umieścić kolumnę wirówkową QIAamp Mini w czystej próbówce do płukania (WT) i wyrzucić próbkę zawierającą przesącz.

Wirować przy pełnej prędkości (około 20 000 x g lub 14 000 rpm) przez 3 minuty w celu całkowitego osuszenia membrany.

 Pominięcie odwirowania do pełnego osuszenia membrany może spowodować inhibicję reakcji zachodzących w dalszych oznaczeniach.

14. Umieścić kolumnę wirówkową QIAamp Mini w nowej próbówce do elucji (ET) i wyrzucić próbkę do płukania (WT) zawierającą przesącz. Ostrożnie otworzyć wieczko kolumny wirówkowej QIAamp Mini i nanieść od 50 do 200 µl buforu do elucji (AE) na środek membrany.

① Użycie nowej probówki do elucji jest ważne, ponieważ zapobiega wystąpieniu zanieczyszczenia pozostałościami buforów płuczających, które mogą doprowadzić do inhibicji reakcji zachodzących w dalszych oznaczeniach.

① Naniesienie buforu do elucji (AE) na środek membrany jest szczególnie ważne w przypadku mniejszych objętości elucji, ponieważ zapewnia optymalny odzysk kwasów nukleinowych i buforu do elucji (AE).

15. Zamknąć wieczko i inkubować w temperaturze pokojowej przez 1 minutę. Wirować przy około 6000 x g (8000 rpm) przez 1 minutę w celu elucji DNA.

① Obrócić wieczka probówek do elucji w taki sposób, aby były skierowane w stronę przeciwną do kierunku, w którym obraca się rotor (np. jeśli rotor obraca się zgodnie z ruchem wskazówek zegara, obrócić wieczka w kierunku przeciwnym do ruchu wskazówek zegara).

① W przypadku stosowania dowolnej procedury zautomatyzowanej należy wyjąć eluaty bezpośrednio z aparatu po zakończonym cyklu i odpowiednio je przechowywać.

Protokół: Izolacja i oczyszczanie genomowego DNA z próbek krwi za pomocą systemu próżniowego

Służy do izolacji i oczyszczania genomowego DNA z poddanych działaniu EDTA lub cytrynianu próbek krwi pełnej o objętości 200 µl za pomocą systemu próżniowego, takiego jak system próżniowy QIAvac 24 Plus.

Ważna informacja przed rozpoczęciem

Poniższa procedura zawiera instrukcje dotyczące przetwarzania pojedynczej próbki krwi. W systemie próżniowym QIAvac 24 Plus można jednak przetwarzać do 24 próbek jednocześnie.

Czynności do wykonania przed rozpoczęciem procedury

- Doprowadzić próbki krwi do temperatury pokojowej i upewnić się, że są dobrze wymieszane.
- Upewnić się, że wszystkie odczynniki i kolumny mikrowirówkowe QIAamp Mini (w zamkniętych blistrach) osiągnęły temperaturę pokojową.
- Ustawić blok grzewczy na temperaturę 56°C do użycia w kroku 4.
- Upewnić się, że bufor płuczący 1 (AW1), bufor płuczący 2 (AW2) i proteaza QIAGEN Protease (QP) zostały przygotowane zgodnie z instrukcjami w części „Przygotowanie odczynników i buforów” na stronie 23.
- Jeśli w buforze do lizy (AL) wytrącił się precipitat, należy go rozpuścić, inkubując bufor w temperaturze 56°C.
- Aby zminimalizować ryzyko zanieczyszczenia krzyżowego włożyć złącze VacConnector (VC) do każdego adaptera typu Luer systemu próżniowego.
- Upewnić się, że butelka na odpady systemu próżniowego jest pusta i że wszystkie złącza są prawidłowo podłączone.
- Szczegółowe informacje dotyczące obsługi systemu próżniowego, zwłaszcza jego konserwacji, zawiera dostarczona razem z nim instrukcja obsługi.
- Procedury kontroli jakości firmy QIAGEN obejmują testowanie działania zestawów przed ich wprowadzeniem na rynek, wykonywane dla każdej serii zestawów. Z tego względu nie należy mieszać odczynników pochodzących z różnych serii zestawów ani łączyć poszczególnych odczynników o różnych numerach serii.


Procedura

1. Za pomocą pipety przenieść 20 µl proteazy QIAGEN Protease (QP) do próbki do lizy (LT).
 - ❗ Przed użyciem należy sprawdzić datę ważności zrekonstruowanej proteazy.
2. Dodać 200 µl próbki krwi do próbki do lizy (LT).
3. Dodać 200 µl buforu do lizy (AL) do próbki do lizy (LT), zamknąć wieczko i wymieszać, wytrząsając pulsacyjnie przez ≥ 15 s.
 - ❗ Aby zapewnić skuteczną lizę, istotne jest, aby próbka i bufor do lizy (AL) były dobrze wymieszane i tworzyły jednorodny roztwór.
 - ❗ Ze względu na to, że bufor do lizy (AL) ma dużą lepkość, należy upewnić się, że dodano odpowiednią objętość buforu, ostrożnie pipetując lub stosując pipetę ustawioną na odpowiednią objętość.
 - ❗ Nie dodawać proteazy QIAGEN Protease (QP) bezpośrednio do buforu do lizy (AL).
4. Inkubować w temperaturze 56°C przez 10 minut.
5. Odwirować próbkę do lizy (LT) przez ≥ 5 s przy pełnej prędkości, aby usunąć krople z wnętrza wieczka.
6. Dodać 200 µl etanolu (96–100%) do próbki do lizy (LT), zamknąć wieczko i dokładnie wymieszać, wytrząsając pulsacyjnie przez ≥ 15 s.
7. Odwirować próbkę do lizy (LT) przez ≥ 5 s przy pełnej prędkości, aby usunąć krople z wnętrza wieczka.
8. Włożyć kolumnę wirówkową QIAamp Mini do złącza VacConnector (VC) w systemie próżniowym. Upewnić się, że główny zawór próżniowy (między systemem próżniowym a kolektorem próżniowym) i zawór nakrętki (na kolektorze próżniowym) są zamknięte. Włączyć pompę próżniową.

Wyrzucić probówkę do płukania (WT) (2 ml), w której znajduje się kolumna wirówkowa QIAamp Mini w blistrze.


Próżnia jest stosowana wyłącznie do systemu łączącego (jeśli jest używany), a nie do kolektora próżniowego.


9. Ostrożnie nanieść cały lizat z kroku 7 do kolumny wirówkowej QIAamp Mini bez zamaczania jej brzegu. Unikać dotykania membrany kolumny wirówkowej QIAamp Mini końcówką pipety.


 W przypadku przetwarzania wielu próbek należy otwierać tylko jedną probówkę do lizy (LT) naraz.

10. Otworzyć główny zawór próżniowy. Po przejściu lizatu przez kolumnę wirówkową QIAamp Mini należy zamknąć główny zawór próżniowy i otworzyć zawór nakrętki na kolektorze próżniowym, aby odpowietrzyć kolektor. Zamknąć zawór nakrętki na kolektorze próżniowym po przywróceniu normalnego ciśnienia w kolektorze.

Po zamknięciu głównego zaworu próżniowego, próżnia jest stosowana wyłącznie do systemu łączącego (jeśli jest używany), a nie do kolektora próżniowego.

 Użyć zaworu nakrętki na kolektorze próżniowym, aby szybko przywrócić normalne ciśnienie.




 Jeśli jednocześnie przetwarzanych jest kilka kolumn wirówkowych QIAamp Mini, zalecane jest zamknięcie zaworu VacValve każdej kolumny po przejściu lizatu, aby skrócić czas trwania tego etapu próżniowego.

 Jeśli lizat nie przeszedł w całości przez membranę po upływie 10 minut, należy umieścić kolumnę wirówkową QIAamp Mini w czystej probówce do płukania (WT), zamknąć wieczko, a następnie wirować przy 6000 x g (8000 rpm) przez 3 minuty lub do całkowitego przejścia lizatu przez membranę. Umieścić kolumnę wirówkową QIAamp Mini w kolejnej czystej probówce do płukania (WT) i przejść do kroku 10 protokołu na stronie 34.



Jeśli lizat nadal nie przechodzi przez membranę podczas wirowania, wyrzucić próbkę i powtórzyć izolację i oczyszczanie, używając nowego materiału próbki, począwszy od kroku 1 na stronie 33.

11. Nanieść 750 µl buforu płuczającego 1 (AW1) na kolumnę wirówkową QIAamp Mini bez zamaczania brzegu kolumny. Unikać dotykania membrany kolumny wirówkowej QIAamp Mini końcówką pipety. Pozostawić otwarte wieczko kolumny i otworzyć główny zawór próżniowy. Po przejściu buforu płuczającego 1 (AW1) przez kolumnę wirówkową QIAamp Mini należy zamknąć główny zawór próżniowy i otworzyć zawór nakrętki, aby odpowietrzyć kolektor. Zamknąć zawór nakrętki na kolektorze próżniowym po przywróceniu normalnego ciśnienia w kolektorze.

12. Nanieść 750 µl buforu płuczącego 2 (AW2) na kolumnę wirówkową QIAamp Mini bez zamaczania brzegu kolumny. Unikać dotykania membrany kolumny wirówkowej QIAamp Mini końcówką pipety. Pozostawić otwarte wieczko kolumny i otworzyć główny zawór próżniowy. Po przejściu buforu płuczącego 2 (AW2) przez kolumnę wirówkową QIAamp Mini należy zamknąć główny zawór próżniowy i otworzyć zawór nakrętki, aby odpowietrzyć kolektor. Zamknąć zawór nakrętki na kolektorze próżniowym po przywróceniu normalnego ciśnienia w kolektorze.
13. Zamknąć wieczko kolumny wirówkowej QIAamp Mini, wyjąć ją z systemu próżniowego i wyrzucić złącze VacConnector (VC). Umieścić kolumnę wirówkową QIAamp Mini w czystej probówce do płukania (WT) i wirować przy pełnej prędkości (około 20 000 x g lub 14 000 rpm) przez 3 minuty, aby całkowicie osuszyć membranę.
-  Pominięcie odwirowania do pełnego osuszenia membrany może spowodować inhibicję reakcji zachodzących w dalszych oznaczeniach.
14. Umieścić kolumnę wirówkową QIAamp Mini w nowej probówce do elucji (ET) i wyrzucić probówkę do płukania (WT) zawierającą przesącz. Ostrożnie otworzyć wieczko kolumny wirówkowej QIAamp Mini i nanieść od 50 do 200 µl buforu do elucji (AE) na środek membrany.
-  Użycie nowej próbki do elucji (ET) jest ważne, ponieważ zapobiega wystąpieniu zanieczyszczenia pozostałościami buforów płuczących, które mogą doprowadzić do inhibicji reakcji zachodzących w dalszych oznaczeniach.
-  Nanieśnięcie buforu do elucji (AE) na środek membrany jest szczególnie ważne w przypadku mniejszych objętości elucji, ponieważ zapewnia optymalny odzysk kwasów nukleinowych i buforu do elucji (AE).

15. Zamknąć wieczko i inkubować w temperaturze pokojowej przez 1 minutę. Wirować przy 6000 x g (8000 rpm) przez 1 minutę w celu elucji DNA.



Obrócić wieczka próbek do elucji (ET) w taki sposób, aby były skierowane w stronę przeciwną do kierunku, w którym obraca się rotor (np. jeśli rotor obraca się zgodnie z ruchem wskazówek zegara, obrócić wieczka w kierunku przeciwnym do ruchu wskazówek zegara).



Po zakończeniu tego protokołu należy postępować według procedury konserwacji dla systemu próżniowego (więcej informacji zawiera instrukcja obsługi dostarczona razem z systemem próżniowym).

Kontrola jakości

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

Ograniczenia

Skuteczność systemu ustalono przy użyciu próbek krwi pełnej do izolacji genomowego DNA.

Informacje na temat używania zestawu QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit znajdują się w części „Opis i zasada procedury”. Szczegółowy opis procedury zautomatyzowanej można znaleźć w części „Protokół: Izolacja i oczyszczanie genomowego DNA z próbek krwi za pomocą mikrowirówki lub zautomatyzowanej procedury oczyszczania w aparacie QIAcube Connect MDx”.

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.

Aby zminimalizować ryzyko wystąpienia czynników mających negatywny wpływ na wyniki diagnostyczne, podczas wykonywania dalszych procedur analitycznych należy stosować odpowiednie kontrole. 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 wynikami innych badań klinicznych i laboratoryjnych.

Parametry skuteczności

Mające zastosowanie parametry skuteczności można znaleźć na stronie produktu pod adresem www.qiagen.com, na karcie Resource (Materiały źródłowe).

Rozwiązywanie problemów

Ta część instrukcji dotycząca rozwiązywania problemów może być przydatna w przypadku wystąpienia ewentualnych problemów. Aby uzyskać więcej informacji, należy również zapoznać się ze stroną poświęconą często zadawanym pytaniom (Frequently Asked Questions, FAQ) w witrynie naszego centrum pomocy technicznej pod adresem: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Naukowcy z działu serwisu technicznego firmy QIAGEN zawsze chętnie odpowiedzą na wszelkie pytania dotyczące informacji i/lub protokołów opisanych w niniejszej instrukcji obsługi, a także technologii próbek i oznaczeń (informacje kontaktowe znajdują się na stronie www.qiagen.com).

Komentarze i wskazówki

Ogólne postępowanie

- a) Zatkanie końcówek do pipety podczas przenoszenia próbek
- Przed przeniesieniem próbek należy je dokładnie wymieszać (np. odwracając probówkę kilka razy). Zamrożone próbki należy szybko rozmrozić w łaźni wodnej ustawionej na temperaturę 37°C z delikatnym wstrząśnieniem, aby zapewnić ich dokładne wymieszanie, a następnie przed rozpoczęciem procedury należy doprowadzić je do temperatury pokojowej (15–25°C). Podczas przenoszenia próbek należy unikać skrzepów krwi występujących w próbkach i przenosić materiał niezawierający skrzepów. Krioprecypitaty powstałe podczas rozmrażania zamrożonych próbek zatykają membranę kolumny wirówkowej QIAamp Mini i mogą powodować problemy podczas wykonywania procedury zautomatyzowanej.
- b) Zatkana kolumna wirówkowa QIAamp Mini
- Procedura wirówkowa:**
- Jeśli lisat nie przeszedł całkowicie przez membranę po odwirowaniu przy 6000 x g (8000 rpm), należy ponownie wirować kolumnę przy maksymalnej prędkości (do 20 800 x g) przez 1 minutę.
- Jeśli lisat nadal nie przechodzi przez membranę podczas wirowania, wyrzucić próbkę i powtórzyć izolację i oczyszczanie, używając nowego materiału próbki, počawszy od kroku 1.
- Procedura próżniowa:**
- W przypadku zmniejszenia natężenia przepływu można wydłużyć czas wywierania podciśnienia.
- Alternatywnie można zamknąć zawór VacValve, jeśli jest używany, a następnie ostrożnie wyjąć zespół VacConnector–VacValve z kolumny wirówkowej QIAamp Mini, uważając, aby nie rozlać lisatu.
- Wyjąć kolumnę wirówkową QIAamp Mini z kolektora próżniowego, umieścić ją w probówce do płukania o pojemności 2 ml, a następnie wirować ją przy maksymalnej prędkości, aż cała objętość próbki przejdzie przez membranę. Z powrotem założyć zespół VacConnector–VacValve zawierający pozostałą objętość lisatu. Włączyć pompę próżniową, otworzyć zawór VacValve i kontynuować nakładanie pozostałej objętości lisatu.

Komentarze i wskazówki

Jeśli kolumna wirówkowa QIAamp Mini wciąż się zatyka, powtarzać powyższą procedurę.

Jeśli lizat nadal nie przechodzi przez membranę podczas wirowania, wyrzucić próbkę i powtórzyć izolację i oczyszczanie, używając nowego materiału próbki, począwszy od kroku 1.

Informacje ogólne

W wyniku wielokrotnego zamrażania i rozmrażania próbki mogły powstać krioprecypitaty. Mogą one zatykać kolumnę wirówkową QIAamp Mini. Nie należy używać próbek krwi, które były zamrażane i rozmrażane więcej niż 3 razy. Zamrożone próbki należy szybko rozmrozić w łaźni wodnej ustawionej na temperaturę 37°C z delikatnym wstrząsaniem, aby zapewnić ich dokładne wymieszanie, a następnie przed rozpoczęciem procedury należy doprowadzić je do temperatury pokojowej (15–25°C).

- c) W buforze do lizy (AL) wytrącił się precypitat Rozpuścić precypitat poprzez inkubację buforu do lizy (AL) w temperaturze 56°C.
- d) Zmienne objętości elucji Objętość odzyskanego eluatu jest zależna od właściwości próbki.
Objętość odzyskanego eluatu może być mniejsza od objętości naniesionego na kolumnę buforu do elucji ze względu na zatrzymywanie buforu do elucji (AE) w membranie kolumny wirówkowej po wirowaniu.
Nanieść bufor do elucji (AE) na środek membrany. Naniesienie buforu do elucji (AE) na środek membrany jest szczególnie ważne w przypadku mniejszych objętości elucji, ponieważ zapewnia optymalny odzysk kwasów nukleinowych i buforu do elucji (AE).
- e) Nie osiągnięto podciśnienia o wartości ok. 800–900 mbar Kolektor próżniowy nie jest szczelnie zamknięty. Po włączeniu podciśnienia należy docisnąć wieko kolektora próżniowego. Upewnić się, że osiągnięto podciśnienie. Uszczelka wieka QIAvac zużyła się. Wzrokowo sprawdzić stan uszczelki kolektora i w razie potrzeby wymienić ją.
Zawory VacValves zużyły się. Wyjąć wszystkie zawory VacValves i włożyć złącza VacConnectors (VC) bezpośrednio do przedłużacza Luer. Włożyć kolumny wirówkowe QIAamp Mini do złącza VacConnectors (VC), zamknąć wieczka kolumn, a następnie włączyć podciśnienie. Upewnić się, że osiągnięto podciśnienie. W razie potrzeby wymienić zawory VacValves.
Połączenie z pompą próżniową jest nieszczelne. Zamknąć wszystkie przedłużacze Luer zatyczkami Luer, a następnie włączyć pompę próżniową. Po włączeniu pompy sprawdzić, czy podciśnienie utrzymuje się na stabilnym poziomie (a zawór Vacuum Regulator jest zamknięty). W razie potrzeby wymienić przewody łączące pompę i kolektor próżniowy.
Jeśli wciąż nie jest możliwe osiągnięcie odpowiedniej wartości podciśnienia, należy wymienić pompę próżniową na silniejszą pompę.
- f) W przypadku problemów z procedurą zautomatyzowaną Należy zapoznać się z *podręcznikiem użytkownika aparatu QIAcube Connect MDx* (podręcznik jest dostępny na stronie produktu pod adresem www.qiagen.com, na karcie Resource (Materiały źródłowe)).

Niski uzysk DNA

- a) Niepełna liza próbki Ekspozycja proteazy QIAGEN Protease (QP) na działanie podwyższonych temperatur przez dłuższy czas może prowadzić do utraty jej aktywności. Powtórzyć procedurę, używając nowych próbek i świeżej proteazy QIAGEN Protease (QP).

Komentarze i wskazówki

Należy upewnić się, że proteaza QIAGEN Protease (QP) została rozpuszczona w rozpuszczalniku proteazy (PS) zgodnie z instrukcjami powyżej. Aby uniknąć spieniania, wymieszać zawartość fiolki, odwracając ją kilka razy. Upewnić się, że proteaza QIAGEN Protease (QP) jest całkowicie rozpuszczona. Nie dodawać proteazy QIAGEN Protease (QP) bezpośrednio do buforu do lizy (AL).

Aby zapewnić skuteczną lizę, istotne jest, aby próbka i bufor do lizy (AL) były dobrze wymieszane i tworzyły jednorodny roztwór. Ze względu na to, że bufor do lizy (AL) ma dużą lepkość, należy upewnić się, że dodano odpowiednią objętość buforu, ostrożnie pipetując lub stosując pipetę ustawioną na odpowiednią objętość.

- | | | |
|----|---|--|
| b) | Użycie niskoprocentowego etanolu zamiast etanolu o stężeniu 96–100% | Powtórzyć procedurę oczyszczania, używając nowych próbek i etanolu o stężeniu 96–100%. Nie należy używać alkoholu denaturowanego, który zawiera inne substancje, takie jak metanol lub keton metylowo-etylowy. |
| c) | Nieprawidłowe przygotowanie buforu AW1 lub AW2 | Należy upewnić się, że przed rozpoczęciem procedury koncentraty buforów AW1 i AW2 zostały rozcieńczone w odpowiedniej objętości etanolu o stężeniu 96–100% oraz wymieszane poprzez kilkukrotne odwrócenie butelek. |
| d) | Próbki krwi były przechowywane w nieodpowiedni sposób | Uzysk i jakość oczyszczonego DNA zależą od warunków przechowywania krwi. Dla świeższych próbek krwi można otrzymać lepsze wyniki. W przypadku przechowywania krótkoterminowego, wynoszącego maksymalnie 10 dni, zalecane jest przechowywanie w temperaturze 2–8°C. W przypadku zastosowań, dla których wymagany jest maksymalny rozmiar fragmentu, takich jak hybrydyzacja Southerna, zalecane jest jednak, aby próbki były przechowywane w temperaturze 2–8°C przez maksymalnie 3 dni, ponieważ po upływie tego czasu DNA w niewielkim stopniu ulega degradacji. W przypadku przechowywania długoterminowego (przekraczającego 10 dni) krew należy pobrać do próbek zawierających standardowy antykoagulant (najlepiej EDTA, jeśli wymagany jest DNA o dużej masie cząsteczkowej) i przechowywać ją w temperaturze –20 lub –80°C. |
| e) | Zamrożone próbki krwi nie zostały dobrze wymieszane po rozmrożeniu | Zamrożone próbki należy szybko rozmrozić w łaźni wodnej ustawionej na temperaturę 37°C z delikatnym wstrząsaniem, aby zapewnić ich dokładne wymieszanie, a następnie przed rozpoczęciem procedury należy doprowadzić je do temperatury pokojowej (15–25°C). |

Niska wydajność DNA w dalszych procedurach analitycznych












- | | | |
|----|---|---|
| a) | Niewielka ilość/brak DNA w eluacie | Patrz „Niski uzysk DNA” (powyżej), aby uzyskać informacje o możliwych przyczynach. Jeśli jest to możliwe, zwiększyć ilość eluatu dodawanego do reakcji. |
| b) | Zastosowano nieprawidłową objętość elucji | Określić maksymalną objętość eluatu odpowiednią dla dalszej procedury. Odpowiednio zwiększyć lub zmniejszyć objętość eluatu dodawaną do dalszej procedury. Można proporcjonalnie dostosować objętość elucji. Przeprowadzanie elucji w mniejszych objętościach buforu AE prowadzi do uzyskania większego stężenia kwasów nukleinowych, ale może spowodować otrzymanie mniejszego uzysku całkowitego. |
| c) | Użyto niewystarczającej ilości DNA | Oznaczyć ilościowo oczyszczony DNA, wykonując spektrofotometryczny pomiar absorpcji przy 260 nm. |

Komentarze i wskazówki







- d) Użyto zbyt dużej ilości DNA Zbyt duża ilość DNA może zahamować niektóre reakcje enzymatyczne. Oznaczyć ilościowo oczyszczony DNA, wykonując spektrofotometryczny pomiar absorbancji przy 260 nm.
- e) Potencjalne zanieczyszczenie spowodowane przeniesieniem inhibitora Przed elucją należy wykonać krok wirowania w celu osuszenia membrany, aby zapobiec potencjalnej inhibicji reakcji zachodzących podczas dalszych oznaczeń. Użycie nowej probówki do elucji (ET) jest ważne, ponieważ zapobiega wystąpieniu zanieczyszczenia pozostałościami buforów płuczających, które mogą doprowadzić do inhibicji reakcji zachodzących w dalszych oznaczeniach.

Symbole

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

Symbol	Definicja symbolu
	Zawiera odczynniki wystarczające do wykonania <N> reakcji
	Data ważności
	Ten produkt spełnia wymogi rozporządzenia europejskiego 2017/746 w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro.
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Po otrzymaniu
	Otworzyć w momencie dostawy; kolumny wirówkowe QIAamp Mini przechowywać w temperaturze 2–8°C
	Numer katalogowy
	Numer serii
	Numer materiału (tj. oznaczenie składnika)
	Składniki
	Zawiera

Symbol	Definicja symbolu
	Numer
	Globalny numer jednostki handlowej
Rn	R oznacza wydanie instrukcji użycia, a n oznacza numer wydania
	Zakres temperatury
	Producent
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Objętość
	Po dodaniu etanolu do butelki zapisać bieżącą datę
	Dodawanie
	Liofilizowane
	Rekonstruować w
	Etanol

Symbol	Definicja symbolu
	Chlorowodorek guanidyny
	Subtylizyna
	Prowadzi do
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Ważna informacja
	Niepowtarzalny identyfikator wyrobu

Dane do zamówień

Produkt	Zawartość	Nr kat.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Na 50 przygotowań: kolumny wirówkowe QIAamp Mini, bufory, odczynniki, probówki, złącza VacConnectors	61104
Produkty pokrewne		
QIAcube Connect MDx*	Aparat i 1 rok gwarancji na części i robociznę	9003070
Akcesoria		
QIAvac 24 Plus†	Kolektor próżniowy do przetwarzania 1–24 kolumn wirówkowych: obejmuje kolektor QIAvac 24 Plus Vacuum Manifold, zatyczki Luer i szybkozłączki	19413
Vacuum Pump (230 V, 50 Hz)†	Uniwersalna pompa próżniowa (pojemność 34 litry/min, próżnia abs. 8 mbar)	84020
VacConnectors (500)†	500 jednorazowych złączy do stosowania z kolumnami wirówkowymi QIAamp na złączach typu Luer	19407
VacValves (24)	24 zawory do stosowania z kolektorami QIAvac 24 i QIAvac 24 Plus	19408
Vacuum Regulator	Do stosowania z kolektorami QIAvac	19530
QIAvac Connecting System	System łączący kolektor próżniowy z pompą próżniową: obejmuje tacę, butelki na odpady, przewody, złączki, zawór, manometr i 24 zawory VacValves	19419

Produkt	Zawartość	Nr kat.
Rotor Adapters (10 x 24)	Na 240 przygotowań: 240 jednorazowych adapterów rotora i 240 probówek do elucji (1,5 ml); do stosowania z aparatem QIAcube Connect MDx	990394
Rotor Adapter Holder	Uchwyt na 12 jednorazowych adapterów rotora; do stosowania z aparatem QIAcube Connect MDx	990392
Sample Tubes CB (2 ml)	1000 probówek stożkowych z nakrętką, bez stożkowego obudowanego dna (2 ml) do stosowania z aparatem QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	Zatyczki do wytrząsarki (12)	9017854
Reagent Bottles, 30 ml (6)	Butelki na odczynniki (30 ml) z wieczkami; 6 szt.; do stosowania z aparatem QIAcube Connect MDx	990393
Filter-Tips, 1000 µl (1024)	Jednorazowe końcówki z filtrem, na statywie; (8 x 128). Do stosowania z aparatem QIAcube Connect MDx	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore (1024)	Jednorazowe końcówki z filtrem, z dużym otworem wylotowym, na statywie; (8 x 128); niewymagane do wszystkich protokołów. Do stosowania z aparatem QIAcube Connect MDx	990452
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Jednorazowe końcówki z filtrem, na statywie; (8 x 128). Do stosowania z aparatami QIAcube Connect MDx i QIASymphony SP/AS	990332

* Aparat QIAcube Connect MDx jest niedostępny w niektórych krajach. Aby uzyskać więcej informacji, należy skontaktować się z serwisem technicznym firmy QIAGEN.

† Do użytku z protokołami próżniowymi.

Aktualne informacje licencyjne oraz dotyczące wyłączenia odpowiedzialności dla poszczególnych produktów znajdują się w odpowiedniej instrukcji użycia zestawu firmy QIAGEN. Instrukcje użycia zestawów firmy QIAGEN są dostępne pod adresem www.qiagen.com. Można je także zamówić w serwisie technicznym firmy QIAGEN lub u lokalnego dystrybutora.

Historia zmian dokumentu

Wydanie

Opis

R1, czerwiec 2022 r.

Wersja 3, wydanie 1

- W ramach wersji 3 dokumentacji zestawu zaktualizowano treść w celu zapewnienia zgodności z rozporządzeniem IVDR
- Zaktualizowano treść części „Opis i zasada procedury”
- Zaktualizowano treść części „Dostarczane materiały” (dodano informacje o substancjach aktywnych) i „Materiały wymagane, ale niedostarczane”
- Zaktualizowano treść części „Ostrzeżenia i środki ostrożności” (dodano informacje dotyczące nagłych przypadków oraz część „Usuwanie”)
- Zaktualizowano treść części „Przechowywanie i sposób postępowania z odczynnikami”
- Zaktualizowano treść części „Pobieranie, przechowywanie i sposób postępowania z próbkami”
- Zaktualizowano treść części „Ważne informacje” i „Procedura”
- Zaktualizowano treść części „Ograniczenia”
- Zaktualizowano treść części „Parametry skuteczności”
- Zaktualizowano treść części „Symbole”
- Zaktualizowano treść części „Dane do zamówień”

Ta strona została celowo pozostawiona pusta

Umowa ograniczonej licencji dla zestawu QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

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

1. Niniejszy produkt może być użytkowany 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. 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 licencji są dostępne na stronie www.qiagen.com.

Znaki towarowe: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAcube® (QIAGEN Group); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co. KG).

Czerwiec-2022 HB-3030-001 1127543PL © 2022 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.

