

2019. gada septembris

QIAamp[®] DSP Circulating NA Kit Lietošanas instrukcijas (rokasgrāmata)

1. versija



50

IVD

CE

REF

61504



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R4 MAT

1118364LV

Saturs

Paredzētais lietojums	4
Kopsavilkums un skaidrojums	4
Procedūras principi	5
Paraugu tilpumi	5
Paraugu līze	7
QIAamp Mini stobriņa membrānas adsorbcija	7
Atlikušo piemaisījumu atdalīšana	7
Attīrīto nukleīnskābju eluēšana	8
Nukleīnskābju iegūtais daudzums un lielums	8
Protokolu apraksts	9
Nodrošinātie materiāli	10
Komplekta komponenti	10
Nepieciešamie materiāli, kas netiek piegādāti	11
Brīdinājumi un piesardzības pasākumi	12
Reaģentu uzglabāšana un lietošana	15
Parauga materiāla uzglabāšana un lietošana	16
Procedūra	17
Buferšķīdumu un reaģentu sagatavošana	24
Breeze protokols: cirkulējošo nukleīnskābju attīrīšana no 1–5 ml cilvēka asins plazmas	27
Klasiskais protokols: cirkulējošo nukleīnskābju attīrīšana no 1–5 ml cilvēka asins plazmas	32
Kvalitātes kontrole	37

Ierobežojumi	37
Simboli.....	38
Atsauces.....	40
Kontaktinformācija	40
Norādījumi par problēmu novēršanu	41
A pielikums. Ieteikums asins plazmas atdalīšanai un uzglabāšanai	43
B pielikums. Vispārīgas piezīmes par RNS apstrādi	45
Informācija par pasūtīšanu	46
Rokasgrāmatas pārskatīšanas vēsture	47

Paredzētais lietojums

QIAamp DSP Circulating NA Kit ir sistēma, kurā izmantota silīcija dioksīda membrānas tehnoloģija (QIAamp tehnoloģija) cirkulējošās starpšūnu DNS un RNS izolēšanai un attīrīšanai no cilvēka asins plazmas paraugiem.

Šo produktu ir paredzēts lietot tikai speciālistiem, piemēram, laborantiem un ārstiem, kuriem ir apmācīti molekulāri bioloģisko metožu izmantošanā.

QIAamp DSP Circulating NA Kit ir paredzēts lietošanai in vitro diagnostikā.

Kopsavilkums un skaidrojums

Brīvi cirkulējošās nukleīnskābes parasti ir sastopamas cilvēka plazmā īsu fragmentu veidā — <1000 bp (DNS), <1000 nt (RNS) vai 20 nt (mikroRNS). Brīvi cirkulējošo nukleīnskābju koncentrācija cilvēka asins plazmā parasti ir zema un dažādiem cilvēkiem ievērojami atšķiras, no cilvēkiem iegūtos paraugos svārstoties 1–100 ng/ml diapazonā (1–5).

QIAamp DSP Circulating NA Kit nodrošina iespēju efektīvi attīrīt cirkulējošās nukleīnskābes no cilvēka plazmas. Paraugi var būt gan svaigi, gan sasaldēti. Pagarinājuma caurulītes un vakuuma apstrāde ar QIAvac 24 Plus nodrošina sākuma parauga tilpumu līdz 5 ml, un elastīgi eluēšanas tilpumi 20–150 µl diapazonā ļauj koncentrēt nukleīnskābju veidus, kas ir zemā koncentrācijā.

Eluētās brīvi cirkulējošās DNS vai RNS ir gatavas izmantošanai pakārtotos lietojumos vai piemērotas uzglabāšanai. QIAamp DSP Circulating NA Kit nodrošina efektīvu proteīnu, nukleāžu un citu piemaisījumu atdalīšanu.

Procedūras principi

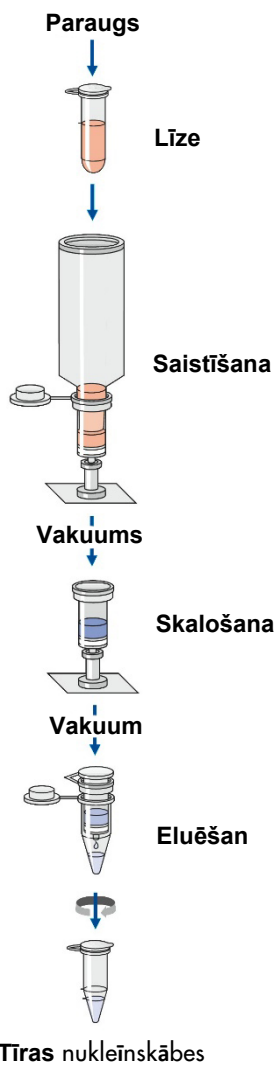
QIAamp DSP Circulating NA procedūra sastāv no 4 posmiem (līze, saistīšana, skalošana un eluēšana), un to veic, izmantojot QIAamp Mini stobriņus QIAvac sistēmā. Drošā procedūra palīdz samazināt krustenisko kontamināciju no parauga uz paraugu un palielina lietotāja drošību, rīkojoties ar potenciāli infekcioziem paraugiem.

Vienkāršā procedūra ir piemērota līdz 24 paraugu vienlaicīgai apstrādei mazāk nekā 2 stundu laikā.

Paraugu tilpumi

QIAamp Mini stobriņi saista fragmentētās nukleīnskābes, kuru garums ir tikai 20 nt, bet iegūtais daudzums ir atkarīgs no parauga tilpuma un paraugā cirkulējošo nukleīnskābju koncentrācijas (parasti 1–100 ng/ml plazmā). QIAamp DSP Circulating NA procedūra ir optimizēta paraugu tilpumiem līdz 5 ml.

QIAamp DSP Circulating NA Kit procedūra



1. attēls. QIAamp DSP Circulating NA Kit procedūras pārskats

Paraugu līze

Brīvi cirkulējošas nukleīnskābes bioloģiskajos šķīdumos parasti ir saistītas ar proteīniem vai atrodas vezikulu apvalkos, tāpēc ir nepieciešams efektīvs līzes posms, lai atbrīvotu nukleīnskābes selektīvai saistīšanai QIAamp Mini stobriņā. Tāpēc paraugi tiek līzēti īpašas denaturācijas apstākļos paaugstinātā temperatūrā proteīnāzes K un buferšķīduma Buffer ACL klātbūtnē, kas nodrošina DNāzes un RNāzes inaktivāciju un atbrīvo nukleīnskābes no saistītajiem proteīniem, lipīdiem un vezikulām.

QIAamp Mini stobriņa membrānas adsorbpcija

Lai nodrošinātu cirkulējošo nukleīnskābju optimālu saistīšanos pie membrānas, tiek pielāgoti saistīšanās apstākļi, lizātam pievienojot buferšķīdumu Buffer ACB. Pēc tam lizāti tiek pārnesti uz QIAamp Mini stobriņu, un cirkulējošās nukleīnskābes no liela tilpuma tiek adsorbētas uz silīcija dioksīda membrānas, kad lizāts tiek sūkts cauri vakuuma spiediena ietekmē. Sāļu un pH līmenis nodrošina, ka lielākā daļa proteīnu un citu piemaisījumu, kas var nomākt PCR un citas pakārtotās fermentatīvās reakcijas, nepaliek uz QIAamp Mini stobriņa membrānas.

Protokola izpildei ir nepieciešams vakuuma kolektors (piem., QIAvac 24 Plus ar QIAvac Connecting System) un vakuuma sūkņis, kas spēj radīt ~800–900 mbar vakuumu (piem., QIAGEN® Vacuum Pump). Lai viegli uzraudzītu vakuuma spiedienu un ērti atbrīvotu vakuumu, jāizmanto ierīce Vacuum Regulator (ietilpst sistēmā QIAvac Connecting System).

Atlikušo piemaisījumu atdalīšana

Nukleīnskābes paliek saistītas ar membrānu, bet piemaisījumi tiek efektīvi aizskaloti 3 skalošanas ciklos.

Attīrīto nukleīnskābju eluēšana

Eluēšanu veic, izmantojot buferšķīdumu Buffer AVE. Viena cikla laikā buferšķīdumā Buffer AVE, kas līdzsvarots līdz istabas temperatūrai, tiek eluētas augstas tīrības cirkulējošās nukleīnskābes. Var pielietot elastīgu eluēšanas tilpumu 50–150 µl. Ja ir nepieciešama augstāka nukleīnskābes koncentrācija, eluēšanas tilpumu var samazināt pat līdz 20 µl. Eluēšanas tilpumi, kas zemāki par 50 µl, var nodrošināt augstākas koncentrācijas nukleīnskābes eluātus, bet var samazināties kopējais iegūtais daudzums.

Atgūtais eluāta tilpums var būt par līdz 5 µl mazāks nekā eluēšanas buferšķīduma tilpums, kas pielietots stobriņam.

Nukleīnskābju iegūtais daudzums un lielums

Brīvi cirkulējošo nukleīnskābju iegūtais daudzums, kas izolēts no bioloģiskiem paraugiem, parasti ir mazāks par 1 µg, tāpēc to ir grūti noteikt ar spektrofotometru. Cirkulējošās DNS un RNS absolūtais iegūtais daudzums, kas iegūts no parauga, izmantojot QIAamp DSP Circulating NA Kit atšķiras paraugiem, kas ņemti no dažādiem cilvēkiem, un ir atkarīgs arī no citiem faktoriem (piem., no dažādu slimību stāvokļiem). Turklāt ekstrahētajās nukleīnskābēs esošā RNS nesējvide, visticamāk, dominēs UV absorbcijas rādījumos (skatiet 25. lpp.). Iegūtā daudzuma noteikšanai ieteicams izmantot kvantitatīvās amplifikācijas metodes.

Cirkulējošo nukleīnskābju, kas attīrītas, izmantojot QIAamp DSP Circulating NA Kit, sadalījumu pēc lieluma var pārbaudīt, izmantojot agarozes gela elektroforēzi vai hibridizāciju ar mērķim atbilstoši marķētu zondi⁵ vai ar mikrošķīduma elektroforēzes šķīdumu (piem., Agilent Bioanalyzer).

Protokolu apraksts

Šajā rokasgrāmatā ir aprakstīti divi dažādi protokoli.

Protokols “Breeze protokols: cirkulējošo nukleīnskābju attīrīšana no 1–5 ml cilvēka asins plazmas” (27. lpp.) ir paredzēts 5 ml plazmas apstrādei 1 ml posmos un ir optimizēts, samazinot roku darbu un izpildes laiku.

Protokols “Klasiskais protokols: cirkulējošo nukleīnskābju attīrīšana no 1–5 ml cilvēka asins plazmas” (32. lpp.) ir paredzēts līdz 5 ml plazmas apstrādei 1 ml posmos, un tas ir neizmainīts QIAamp DSP Circulating NA Kit rokasgrāmatas 3. pārskatītā izdevuma (R3) protokols.

Nodrošinātie materiāli

Komplekta komponenti

QIAamp DSP Circulating NA Kit			(50)
Kataloga Nr.			61504
Sagatavju skaits			50
QIAamp Mini	QIAamp Mini columns with Wash Tubes (QIAamp Mini stobriņi ar skalošanas stobriņiem) (WT) (2 ml)	COL	50
EXT	Column Extenders (Stobriņa paplašinātāji) (20 ml)	COL EXT	2 × 25
WT	Wash Tubes (Skalošanas stobriņi) (2 ml)	WASH TUBE	50
ET	Elution Tubes (Eluēšanas stobriņi) (1,5 ml)	ELU TUBE	50
VC	VacConnectors (Vakuuma savienotāji)	VAC CON	50
ACL*	Lysis Buffer* (Līzes buferšķīdums)	LYS BUF	220 ml
ACB*	Binding Buffer* (concentrate) (Saiestīšanas buferšķīdums (koncentrāts))	BIND BUF CONC	300 ml
ACW1*	Wash Buffer 1* (Skalošanas buferšķīdums 1) (koncentrāts)	WASH BUF 1 CONC	19 ml
ACW2†	Wash Buffer 2† (Skalošanas buferšķīdums 2) (koncentrāts)	WASH BUF 2 CONC	13 ml
AVE†	Elution Buffer† (Eluēšanas buferšķīdums) (violeti vāciņi)	ELU BUF	5 × 2 ml
PROTK	QIAGEN Proteinase K (QIAGEN proteīnāze K)	PROTK	4 × 7 ml
Carrier	Carrier RNA (RNS nesējvide) (sarkani vāciņi))	CAR RNA	310 µg
	Rokasgrāmata	H B	1

* Satur haotropo sāli. Skatiet 12. lpp. sadaļu Brīdinājumi un piesardzības pasākumi.

† Kā konservantu satur nātrija azīdu.

Nepieciešamie materiāli, kas netiek piegādāti

Strādājot ar ķīmiskām vielām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles. Lai saņemtu papildinformāciju, iepazīstieties ar attiecīgajām drošības datu lapām (DDL), kas ir pieejamas pie produkta piegādātāja.

Pārliecinieties, vai instrumenti ir pārbaudīti un kalibrēti saskaņā ar ražotāja ieteikumiem.

Visiem protokoliem

- Pipetes (pielāgojamas)
- Sterili pipetes uzgaļi (lai palīdzētu novērst krustenisko kontamināciju, ieteicami pipetes uzgaļi ar aerosola barjerām)
- Ūdens pelde vai sildīšanas bloks, kurā var ievietot 50 ml centrifūgas stobriņus 56 °C vai 60 °C temperatūrā*
- Sildīšanas bloks vai līdzīga ierīce ar 56 °C temperatūru, kurā var ievietot 2 ml skalošanas stobriņus (tikai Klasiskajam protokolam)*
- Mikrocentrifūga (ar rotoru 2 ml stobriņiem)*
- 50 ml centrifūgas stobriņi
- QIAvac 24 Plus vacuum manifold (kat. nr. 19413)
- QIAvac Connecting System (kat. nr. 19419) vai līdzvērtīga
- Vacuum Pump (kat. nr. 84010 [ASV un Kanāda], 84000 [Japāna] vai 84020 [pārējās valstīs]) vai līdzvērtīgs sūkņis, kas spēj ražot –800 līdz –900 mbar vakuumu
- Etanols (96–100%)[†]
- Izopropanols (100%)
- Sasmaicināts ledus (tikai protokolam “Klasiskais protokols: cirkulējošo nukleīnskābju attīrīšana no 1–5 ml cilvēka asins plazmas”.)
- Dažiem paraugiem var būt nepieciešama atšķaidīšana ar fosfāta sāls buferšķīdumu (PBS)
- Papildiespēja. VacValves (kat. nr. 19408)

* Pārliecinieties, vai instrumenti ir pārbaudīti un kalibrēti saskaņā ar ražotāja ieteikumiem.

[†] Neizmantojiet denaturētu spirtu, kas satur papildvielas, piemēram, metanolu vai metilētilketonu.

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

Lietošanai in vitro diagnostikā

Strādājot ar ķīmiskām vielām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles. Lai iegūtu papildinformāciju, skatiet attiecīgās drošības datu lapas (safety data sheet, SDS). Tās ir pieejamas tiešsaistē ērtā un kompaktā PDF formātā vietnē www.qiagen.com/safety, kur var atrast, skatīt un izdrukāt SDS katram QIAGEN komplektam un komplekta komponentam.

BRĪDINĀJUMS Traumu risks cilvēkiem



NEPIEVIEENOJIET balinātāju vai skābus šķīdumus tieši paraugu sagatavošanas atkritumiem.

Buferšķīdumi Buffer ACL, Buffer ACB un Buffer ACW1 satur guanidīna sāļus, kas, kombinējot ar balinātāju, var veidot augstas reaģētspējas savienojumus.

Ja šķīdums, kas satur šos buferšķīdumus, ir izšļakstīts, notīriet to ar piemērotu laboratorijas mazgāšanas līdzekli un ūdeni. Ja izlijušais šķīdums satur potenciāli infekciozas vielas, vispirms notīriet skarto vietu ar laboratorijas mazgāšanas līdzekli un ūdeni un pēc tam ar 1% (v/v) nātrija hipohlorītu.

Uz QIAamp DSP Circulating NA Kit sastāvdaļām attiecas tālāk norādītie bīstamības un piesardzības pasākumu paziņojumi.

Buffer ACB



Satur: guanidīna tiocianātu. Bīstami! Kaitīgs, ja norij. Var būt kaitīgs, saskaroties ar ādu vai ieelpojot. Izraisa smagus ādas apdegumus un acu traumas. Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām. Saskarē ar skābēm izdalās ļoti toksiska gāze. Izmantot aizsargcimdus/aizsargdrēbes/acu aizsargus/sejas aizsargus. JA IEKĻŪST ACĪS: uzmanīgi izskalot ar ūdeni vairākas minūtes. Izņemt kontaktlēcas, ja tās ir ievietotas un ja to ir viegli izdarīt. Turpināt skalot. Nekavējoties sazinieties ar SAINDĒŠANĀS INFORMĀCIJAS CENTRU vai ārstu/ģimenes ārstu.

Buffer ACL



Satur: guanidīna tiocianātu. Bīstami! Kaitīgs, ja norij. Var būt kaitīgs, saskaroties ar ādu vai ieelpojot. Izraisa smagus ādas apdegumus un acu traumas. Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām. Saskarē ar skābēm izdalās ļoti toksiska gāze. Izmantot aizsargcimdus/aizsargdrēbes/acu aizsargus/sejas aizsargus. JA IEKĻŪST ACĪS: uzmanīgi izskalot ar ūdeni vairākas minūtes. Izņemt kontaktlēcas, ja tās ir ievietotas un ja to ir viegli izdarīt. Turpināt skalot. Nekavējoties sazinieties ar SAINDĒŠANĀS INFORMĀCIJAS CENTRU vai ārstu/ģimenes ārstu.

Buffer ACW1



Satur: guanidīna hidrochlorīdu. Brīdinājums! Kaitīgs, norijot vai ieelpojot. Izraisa ādas kairinājumu. Izraisa nopietnu acu kairinājumu. Izmantot aizsargcimdus/aizsargdrēbes/acu aizsargus/sejas aizsargus.

Proteinase K



Satur: Proteināze K. Bīstami! Izraisa mērenu ādas kairinājumu. Ja ieelpo, var izraisīt alerģiju vai astmas simptomus, vai apgrūtināt elpošanu. Izvairīties ieelpot putekļus/tvaikus/gāzi/dūmus/izgarojumus/smidzinājumu. Izmantot aizsargcimdus/aizsargdrēbes/acu aizsargus/sejas aizsargus. Lietot elpošanas orgānu aizsargierīces. Saskaņā ar gadījuma vai ja ir aizdomas par to: sazinieties ar SAINDĒŠANĀS INFORMĀCIJAS CENTRU vai ārstu/ģimenes ārstu. Nogādāt cietušo svaigā gaisā un nodrošināt netraucētu elpošanu.

Reaģentu uzglabāšana un lietošana

QIAamp Mini stobriņi jāuzglabā sausā vietā 2–8 °C temperatūrā. Visi buferšķīdumi jāuzglabā istabas temperatūrā (15–25 °C). QIAamp Mini stobriņus un buferšķīdumus šādos apstākļos bez veikspējas samazinājuma pazīmēm var uzglabāt līdz derīguma termiņa beigu datumam, kas norādīts uz komplekta kārbas.

Liofilizēta RNS nesējvide jāuzglabā istabas temperatūrā (15–25 °C) līdz derīguma termiņa beigu datumam, kas norādīts uz komponenta etiķetes. Carrier RNA (RNS nesējvide) jāšķīdina buferšķīdumā Buffer AVE; izšķīdinātā RNS nesējvide nekavējoties jāpievieno buferšķīdumam Buffer ACL, kā aprakstīts 28. lpp sadaļā Breeze Protocol un 33. lpp. sadaļā Klasiskais protokols. Šis šķīdums jā sagatavo svaigs, un tas ir stabils 2–8 °C temperatūrā līdz 48 stundām. Neizlietotais buferšķīdumā Buffer AVE izšķīdinātais RNS nesējvides daudzums ir jāsasaldē alikvotās daļās –30 līdz –15 °C temperatūrā.

Komplektā QIAamp DSP Circulating NA Kit ietilpst lietošanai gatavs proteināzes K šķīdums, kas izšķīdināts īpaša sastāva uzglabāšanas buferšķīdumā. Proteināze K ir stabila līdz derīguma termiņa beigu datumam, kas norādīts uz komponenta marķējuma, ja tiek uzglabāta istabas temperatūrā (15–25 °C).

Parauga materiāla uzglabāšana un lietošana

Asins uzglabāšana un rīkošanās

Lai izvairītos no starpšūnu nukleīnskābju noārdīšanās un šūnu nukleīnskābju atbrīvošanas, pilnasinis ieteicams uzglabāt ne vairāk kā 6 h 2–8 °C temperatūrā (piem., EDTA paraugus). Ja izmantojat stabilizētus asins ņemšanas stobriņus, lūdzu, ievērojiet ražotāja noteiktos uzglabāšanas nosacījumus. Ieteicams pārbaudīt šos uzglabāšanas apstākļus kombinācijā ar jūsu konkrēto pakārtoto lietojumu un mērķi.

Plazmas uzglabāšana un rīkošanās

Ieteicams veikt plazmas atdalīšanu un nukleīnskābes izolēšanu nekavējoties pēc asins savākšanas, ja kā antikoagulants tiek izmantots EDTA, it īpaši RNS iegūšanai. Īslaicīgas uzglabāšanas gadījumā plazmu var uzglabāt līdz 24 stundām 2-8 °C temperatūrā.

Ilgākas uzglabāšanas gadījumā plazmas alikvotās daļas no stabilizētiem vai nestabilizētiem asins ņemšanas stobriņiem var uzglabāt –20 °C temperatūrā (tikai, ja mērķis ir DNS) vai –80 °C temperatūrā (ja mērķis ir DNS un RNS) vismaz 4 nedēļas.

Eluēto nukleīnskābju uzglabāšana

Eluētās nukleīnskābes tiek savāktas 1,5 ml eluēšanas stobriņos (ietilpst piegādes komplektācijā). Attīrītās cirkulējošās nukleīnskābes var uzglabāt līdz 24 stundām 2–8 °C temperatūrā. Ja uzglabāšanas laiks ir ilgāks par 24 stundām, pakārtotajiem lietojumiem ieteicamā uzglabāšanas temperatūra ir –30 līdz –15 °C DNS iegūšanai un –90 līdz –60 °C RNS iegūšanai.

Procedūra

Svarīga informācija pirms darba sākšanas

QIAvac 24 Plus

QIAvac 24 Plus ir izstrādāts ātrai un efektīvai vakuumpastrādei paralēli līdz 24 QIAGEN centrifūgas stobriņus. Paraugi un skalošanas šķīdumi tiek izsūkti cauri stobriņu membrānām ar vakuumu, nevis ar centrifugēšanu, nodrošinot lielāku ātrumu un mazāk roku darba attīrīšanas procedūrās.

Kombinācijā ar iekārtu QIAvac Connecting System sistēmu QIAvac 24 Plus var izmantot kā caurplūdes sistēmu. Paraugu caurplūde tiek savākta atsevišķā atkritumu pudelē.

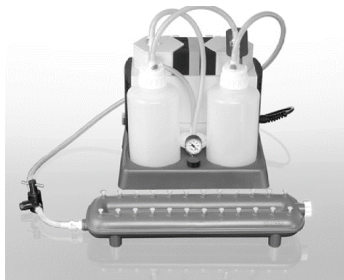
Informāciju par QIAvac 24 Plus apkopi skatiet rīkošanās norādījumos *QIAvac 24 Plus rokasgrāmatā*.

QIAamp Mini stobriņu apstrāde sistēmā QIAvac 24 Plus

QIAamp Mini stobriņus sistēmā QIAvac 24 Plus apstrādā, izmantojot vienreizlietojamus savienotājus VacConnectors un atkārtoti lietojamus vārstus VacValves. Vārstus VacValves (papildiespēja) ievieto tieši QIAvac 24 Plus kolektora Luer tipa slotos un nodrošina pastāvīgu plūsmas ātrumu, kas atvieglo dažāda tilpuma paraugu paralēlu apstrādi. Tie jāizmanto, lai nodrošinātu nemainīgu vakuumu, ja paraugu plūsmas ātrumi ievērojami atšķiras. Savienotāji VacConnectors ir vienreizlietojami savienotāji, ko uzstāda starp QIAamp Mini stobriņiem un vārstiem VacValves vai starp QIAamp Mini stobriņiem un sistēmas QIAvac 24 Plus Luer tipa slotiem. Tie novērš tiešu saskari starp centrifūgas stobriņiem un vārstu VacValve attīrīšanas laikā, tādējādi nepieļaujot krustenisko kontamināciju starp paraugiem. Pēc vienas lietošanas savienotāji VacConnectors jāizmet. Lielu šķīduma tilpumu dēļ ir nepieciešama iekārta QIAvac Connecting System (vai līdzīga iekārta ar atkritumu pudelēm) (skatiet 2. attēls).

Rīkošanās norādījumi darbam ar QIAvac 24 Plus

- Vienmēr novietojiet QIAvac 24 Plus uz nostiprināta darbgalda vai nostiprinātas darba virsmas. Nokrišanas gadījumā QIAvac 24 Plus kolektors var saplīst.
- Vienmēr uzglabājiet QIAvac 24 Plus tīrā un sausā vietā. Informāciju par tīrīšanas procedūrām skatiet QIAvac 24 Plus rokasgrāmatā.
- Iekārtas QIAvac 24 Plus komponenti nav izturīgi pret noteiktiem šķīdinātājiem (1. tabula). Ja šie šķīdinātāji tiek izlieti uz iekārtas, rūpīgi noskalojiet to ar ūdeni.
- Lai nodrošinātu nemainīgu veiktspēju, nelietojiet silikona vai vakuuma smērvielas nevienai QIAvac 24 Plus kolektora daļai.
- Strādājot vakuuma kolektora tuvumā, kad tas atrodas zem spiediena, vienmēr ievērojiet piesardzību un valkājiet aizsargbrilles.
- Lai saņemtu informāciju par rezerves vai nomaiņas daļām, sazinieties ar QIAGEN tehniskā atbalsta dienestu vai vietējo izplatītāju.
- Vakuuma spiediens ir spiediena starpība starp spiedienu vakuuma kolektora iekšpusē un atmosfēras spiedienu (standarta atmosfēras spiediens ir 1013 milibāri vai 760 mm Hg), un to var izmērīt, izmantojot sistēmu QIAvac Connecting System (skatiet 2. attēls). Protokolu izpildei ir nepieciešams vakuuma sūknis, kas spēj radīt vakuuma diapazonā no –800 līdz –900 mbar (piem., QIAGEN Vacuum Pump). Augstāks vakuuma spiediens nav pieļaujams. Par ieteikto zemāka vakuuma spiediena izmantošana var samazināt nukleīnskābes iegūto daudzumu un tīrību un palielināt membrānu aizsprostošanās risku.



2. attēls. QIAvac 24 Plus, QIAvac Connecting System un Vacuum Pump

1. tabula. QIAvac 24 Plus ķīmiskās izturības īpašības

Izturīgs pret		Nav izturīgs pret
Etikškābe	Haotropie sāļi	Benzols
Hromskābe	Koncentrēti spirti	Fenols
SDS	Nātrija hlorīds	Hloroforms
Tween® 20	Urīnviela	Toluols
Hlorkaļķis	Sāļsskābe	Ēteri
Nātrija hidroksīds		

QIAvac 24 Plus vacuum manifold uzstādīšana

- Savienojiet QIAvac 24 Plus ar vakuuma avotu. Ja izmantojat iekārtu QIAvac Connecting System, savienojiet sistēmu ar kolektoru un vakuuma avotu, kā aprakstīts *QIAvac 24 Plus rokasgrāmatas A* pielikumā.
- Ievietojiet vārstu VacValve (papildiespēja) katrā QIAvac 24 Plus Luer tipa slotā, ko paredzēts izmantot (skatiet 3. attēls). Aizveriet neizmantotos Luer tipa slotus ar Luer tipa spraudņiem vai aizveriet ievietoto vārstu VacValve.
Vārsti VacValves jāizmanto, lai nodrošinātu nemainīgu vakuumu, ja paraugu plūsmas ātrumi ievērojami atšķiras.
- Ievietojiet savienotāju VacConnector katrā vārstā VacValve (skatiet 3. attēls).
Veiciet šo darbību tieši pirms attīrīšanas sākuma, lai nepakļautu savienotājus VacConnectors gaisā esošo iespējamo piesārņotāju iedarbībai.
- Ievietojiet QIAamp Mini stobriņus savienotājos VacConnectors kolektorā (skatiet 3. attēls).
Piezīme. Saglabājiet blistera iepakojumā esošo skalošanas stobriņu izmantošanai attīrīšanas protokolā.
- Katrā QIAamp Mini stobriņā ievietojiet stobriņa paplašinātāju (20 ml) (skatiet 3. attēls).
Piezīme. Lai nepieļautu parauga noplūdi, pārliecinieties, ka stobriņa paplašinātājs ir cieši ievietots QIAamp Mini stobriņā.

6. Lai veiktu nukleīnskābes attīrīšanu, ievērojiet protokolos sniegtos norādījumus. Pēc lietošanas pareizi atbrīvojieties no savienotājiem VacConnectors.

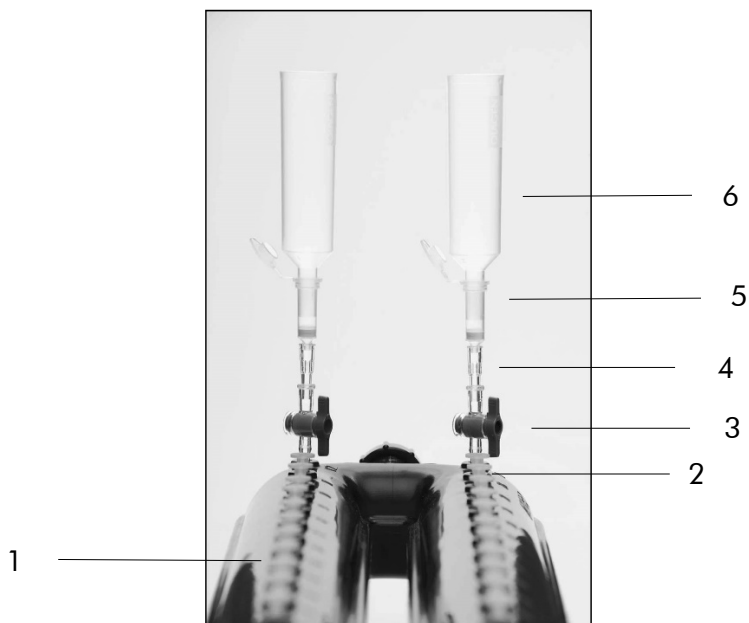
Pielietojot vakuumu, atstājiet QIAamp Mini stobriņa vāciņu atvērtu.

Starp posmiem izslēdziet vakuumu, lai nodrošinātu, ka apstrādes laikā tiek pielietots pastāvīgs, vienmērīgs vakuums. Lai ātrāk iegūtu vakuumu, jāizmanto ierīce Vacuum Regulator (ietilpst iekārtā QIAvac Connecting System).

Piezīme. Katru vārstu VacValve var aizvērt atsevišķi, kad paraugs ir pilnībā izsūkts cauri centrifūgas stobriņam. Tādējādi var paralēli apstrādāt paraugus ar dažādu tilpumu un viskozitāti.

7. Pēc paraugu apstrādes notīriet iekārtu QIAvac 24 Plus (skatiet nodaļu "QIAvac 24 Plus tīrīšana un dekontaminācija" *QIAvac 24 Plus rokasgrāmatā*).

Piezīme. Buferšķīdumi ACL, ACB un ACW1 nav saderīgi ar dezinfekcijas līdzekļiem, kas satur balinātājus. Skatiet 12. lpp. sadaļu Brīdinājumi un piesardzības pasākumi.

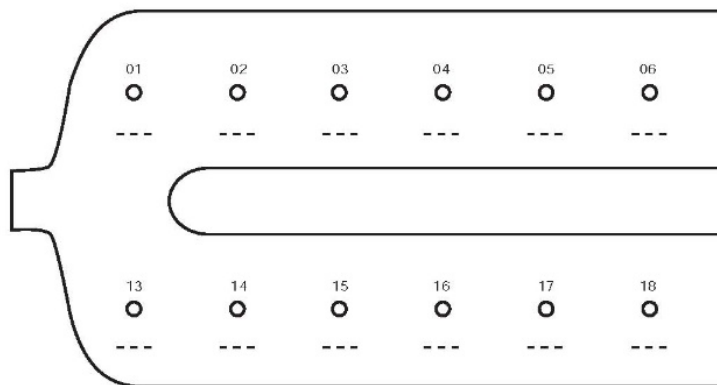


3. attēls. Sistēmas QIAvac 24 Plus aprīkošana ar QIAamp Mini stobriņiem, izmantojot vārstus VacValves, savienotājus VacConnectors un stobriņu paplašinātājus.

- | | |
|---|---------------------------------|
| 1 QIAvac 24 Plus vacuum manifold | 4 VacConnector |
| 2 QIAvac 24 Plus Luer tipa slots
(noslēgts ar Luer tipa spraudni) | 5 QIAamp Mini stobriņš |
| 3 VacValve** | 6 Stobriņa paplašinātāji |

Lai izvairītos no paraugu sajaukšanas, ieteicams marķēt stobriņus un QIAamp Mini stobriņus lietošanai QIAvac 24 Plus vakuuma sistēmā atbilstoši shēmai, kas parādīta šeit: 4. attēls. Šo attēlu var nokopēt un marķēt ar paraugu nosaukumiem.

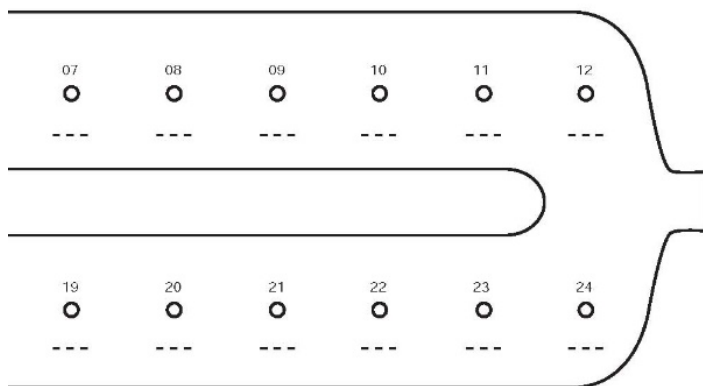
* Jāiegādājas atsevišķi.



Datums: _____

Operators: _____

Sērijas ID: _____



4. attēls. Marķēšanas shēma QIAamp Mini stobriņiem lietošanai QIAvac 24 Plus vakuuma sistēmā

Buferšķīdumu un reaģentu sagatavošana

Buffer ACB

Pirms lietošanas pievienojiet 300 ml buferšķīduma Buffer ACB koncentrātam 200 ml izopropanola (100%), lai iegūtu 500 ml buferšķīduma Buffer ACB. Pēc izopropanola pievienošanas rūpīgi samaisiet.

Buffer ACW1 *

Pirms lietošanas pievienojiet 19 ml buferšķīduma Buffer ACW1 koncentrātam 25 ml etanola (96-100%), lai iegūtu 44 ml buferšķīduma Buffer ACW1. Pēc etanola pievienošanas rūpīgi samaisiet.

Buffer ACW2 †

Pirms lietošanas pievienojiet 13 ml buferšķīduma Buffer ACW2 koncentrātam 30 ml etanola (96-100%), lai iegūtu 43 ml buferšķīduma Buffer ACW2. Pēc etanola pievienošanas rūpīgi samaisiet.

RNS nesējvides pievienošana buferšķīdumam Buffer ACL *

RNS nesējvide paredzēta 2 nolūkiem: pirmkārt, tā veicina nukleīnskābju saistīšanos pie QIAamp Mini membrānas, it īpaši, ja paraugā ir ļoti maz mērķa molekulu. Otrkārt, liela daudzuma RNS nesējvides pievienošana samazina RNS noārdīšanās iespēju tādos retos gadījumos, kad nenotiek RNāzes molekulu denaturācija ar haotropiem sāļiem un mazgāšanas līdzekļiem buferšķīdumā Buffer ACL.

* Satur haotropo sāli. Brīdinājumus un piesardzības pasākumus skatiet 12. lpp.

† Kā konservantu satur nātrija azīdu.

Nodrošinātais liofilizētas RNS nesējvides daudzums ir pietiekams komplektā iekļautā buferšķīduma Buffer ACL tilpumam. Ieteicamā RNS nesējvides koncentrācija ir pielāgota tā, lai QIAamp DSP Circulating NA protokolu varētu izmantot kā vispārēju attīrīšanas sistēmu, kas ir saderīga ar daudzām dažādām amplifikācijas sistēmām, un būtu piemērota plašam RNS un DNS mērķu diapazonam.

Amplifikācijas sistēmu efektivitāte atšķiras atkarībā no reakcijā esošā kopējā nukleīnskābju apjoma. Eluāti, kas iegūti no komplekta, satur gan cirkulējošās nukleīnskābes, gan RNS nesējvidi, un vairumā gadījumu RNS nesējvides daudzums ievērojami pārsniegs cirkulējošo nukleīnskābju daudzumu. Tāpēc izolēto cirkulējošo nukleīnskābju daudzuma noteikšana pēc UV absorbcijas rādītāja nebūs atbilstoša, jo šādu mērījumu rezultātus nosaka RNS nesējvides klātbūtne.

Lai iegūtu amplifikācijas reakciju jutīguma augstāko līmeni, var būt nepieciešams samazināt buferšķīdumam Buffer ACL pievienotās RNS nesējvides daudzumu.

Amplifikācijas sistēmās, kurās izmanto oligo dT praimerus, brīvi cirkulējošo nukleīnskābju izolēšanas laikā nav jāpievieno RNS nesējvide.

Pievienojiet 1550 µl Buffer AVE* stobriņā, kurš satur 310 µg liofilizētas RNS nesējvides, lai iegūtu koncentrāciju 0,2 µg/µl. Rūpīgi izšķīdiniet RNS nesējvidi, sadaliet to piemērota lieluma alikvotās daļās un uzglabājiet -30 līdz -15 °C temperatūrā. Nesasaldējiet un neatkausējiet alikvotās daļas vairāk nekā 3 reizes.

Ņemiet vērā, ka RNS nesējvide nešķīst buferšķīdumā Buffer ACL. Tā vispirms jāizšķīdina buferšķīdumā Buffer AVE un pēc tam jāpievieno buferšķīdumam Buffer ACL.

* Kā konservantu satur nātrija azīdu.

Aprēķiniet paraugu partijai nepieciešamā Buffer ACL–RNS nesējvides maisījuma tilpumu atbilstoši protokolos sniegtajām tabulām. Izvēlieties vienlaikus apstrādājamo paraugu skaitu.

Uzmanīgi samaisiet, 10 reizes apgriežot stobriņu vai pudelīti. Lai nepieļautu putošanos, neskaliniet.

Piezīme. Paraugu sagatavošanas procedūra ir optimizēta maksimāli 1,0 µg RNS nesējvidei uz paraugu. Ja ir noskaidrots, ka jūsu amplifikācijas sistēmai labāk piemērots mazāks RNS nesējvides daudzums, pārnesiet uz stobriņiem, kas satur buferšķīdumu Buffer ACL, tikai nepieciešamo RNS nesējvides daudzumu. Uz katru sagatavotajā šķīdumā nepieciešamās RNS nesējvides mikrogramu pievienojiet buferšķīdumam Buffer ACL 5 µl izšķīdinātas RNS nesējvides. (Var būt izdevīgi izmantot mazāk nekā 1,0 µg RNS nesējvides uz paraugu, un tas ir jāpārbauda katram konkrētam parauga tipam un pakārtotajai analīzei.)

Breeze protokols: cirkulējošo nukleīnskābju attīrīšana no 1–5 ml cilvēka asins plazmas

Šis protokols ir paredzēts cirkulējošo DNS un RNS attīrīšanai no 1–5 ml cilvēka asins plazmas un ir optimizēts, samazinot roku darbu un izpildes laiku. Esošās lietotāju apstiprinātās darbplūsmas, izmantojot QIAamp DSP Circulating Kit versiju 1/R3, lūdzu, skatiet sadaļā “Klasiskais protokols: cirkulējošo nukleīnskābju attīrīšana no 1–5 ml cilvēka asins plazmas” (32. lpp.).

Svarīga informācija pirms darba sākšanas

- Visi centrifugēšanas posmi tiek veikti istabas temperatūrā (15–25 °C).
- Starp posmiem izslēdziet vakuumu, lai nodrošinātu, ka protokola posmu laikā tiek pielietots pastāvīgs, vienmērīgs vakuums.
- **Piezīme.** Vakuuma sūkņa spiedienam jābūt no –800 līdz –900 mbar.
- Līdzsvarojiet paraugus līdz istabas temperatūrai.
- Izmantojiet ar fosfātu buferētu fizioloģisko šķīdumu, lai sasniegtu tuvāko precīzo parauga tilpumu (1 ml līdz 5 ml).
- Sagatavojiet QIAvac 24 Plus, kā aprakstīts 19. lpp.
- Uzsildiet ūdens peldi vai sildīšanas bloku līdz 56 °C lietošanai ar 50 ml centrifūgas stobriņiem 3. posmā.
- Pirms lietošanas līdzsvarojiet QIAamp Mini centrifūgas stobriņus vismaz 1 stundu līdz istabas temperatūrai.
- Pārliecinieties, ka ir sagatavoti buferšķīdumi Buffer ACB, Buffer ACW1 un Buffer ACW2 (izopropanola vai etanola pievienošana) atbilstoši norādījumiem 24. lpp.
- Pievienojiet buferšķīdumā Buffer AVE izšķīdinātu RNS nesējvidi buferšķīdumam Buffer ACL atbilstoši norādījumiem 2. tabula.

2. tabula. Buferšķiduma Buffer ACL un RNS nesējvides (izšķīdināta buferšķidumā Buffer AVE) tilpums, kas nepieciešams 1–5 ml cilvēka asins plazmas paraugu apstrādei

Iestatīšana ml plazmas	A	B	C	D	E	RNS nesējvide buferšķidumā Buffer AVE (µl)
	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml	
Paraugu skaits	Buffer ACL (ml)					
1	0,9	1,8	2,6	3,5	4,4	5,6
2	1,8	3,5	5,3	7,0	8,8	11,3
3	2,6	5,3	7,9	10,6	13,2	16,9
4	3,5	7,0	10,6	14,1	17,6	22,5
5	4,4	8,8	13,2	17,6	22,0	28,1
6	5,3	10,6	15,8	21,1	26,4	33,8
7	6,2	12,3	18,5	24,6	30,8	39,4
8	7,0	14,1	21,1	28,2	35,2	45,0
9	7,9	15,8	23,8	31,7	39,6	50,6
10	8,8	17,6	26,4	35,2	44,0	56,3
11	9,7	19,4	29,0	38,7	48,4	61,9
12	10,6	21,1	31,7	42,2	52,8	67,5
13	11,4	22,9	34,3	45,8	57,2	73,1
14	12,3	24,6	37,0	49,3	61,6	78,8
15	13,2	26,4	39,6	52,8	66,0	84,4
16	14,1	28,2	42,2	56,3	70,4	90,0
17	15,0	29,9	44,9	59,8	74,8	95,6
18	15,8	31,7	47,5	63,4	79,2	101,3
19	16,7	33,4	50,2	66,9	83,6	106,9
20	17,6	35,2	52,8	70,4	88,0	112,5
21	18,5	37,0	55,4	73,9	92,4	118,1
22	19,4	38,7	58,1	77,4	96,8	123,8
23	20,2	40,5	60,7	81,0	101,2	129,4
24	21,1	42,2	63,4	84,5	105,6	135,0

Procedūra: Breeze protokols

1. Pipetējiet QIAGEN Proteinase K, plazmu un buferšķīdumu Buffer ACL **šādā secībā** 50 ml centrifūgas stobriņā (neietilpst komplektācijā).

Iestatīšana	A	B	C	D	E
ProtK (µl)	100	200	300	400	500
Plazma (ml)	1	2	3	4	5
ACL (ml)	0,8	1,6	2,4	3,2	4

2. Aizveriet vāciņu un samaisiet, 5 x 2 sekundes ar pārtraukumiem saskalīnot.

Pārliecinieties, ka stobriņā veidojas saskatāms virpulis. Lai nodrošinātu efektīvu līzi, ir svarīgi rūpīgi samaisīt paraugu un Buffer ACL, iegūstot viendabīgu šķīdumu.

Piezīme. Šajā brīdī nepārtrauciet procedūru. Nekavējoties turpiniet ar 3. posmu, lai sāktu līzes inkubāciju.

3. Inkubējiet 56 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$) temperatūrā 15 (± 1) minūtes.
4. Novietojiet stobriņu atpakaļ uz laboratorijas galdā un noskrūvējiet vāciņu.
5. Stobriņā esošajam lizātam pievienojiet Buffer ACB. Izvēlieties tilpumu atbilstoši iestatīšanai 1. posmā.

Iestatīšana	A	B	C	D	E
ACB (ml)	1,8	3,6	5,4	7,2	9

6. Aizveriet vāciņu un rūpīgi samaisiet, 5 x 2 sekundes ar pārtraukumiem saskalīnot.

Pārliecinieties, ka stobriņā veidojas saskatāms virpulis. Lai nodrošinātu efektīvu līzi, ir svarīgi rūpīgi samaisīt lizātu un Buffer ACB, iegūstot viendabīgu šķīdumu.

7. Inkubējiet lizāta–Buffer ACB maisījumu stobriņā 5 (± 1) minūtes istabas temperatūrā.

8. Ievietojiet QIAamp Mini stobriņus savienotājos VacConnector iekārtā QIAvac 24 Plus (skatiet “QIAvac 24 Plus vacuum manifold uzstādīšana”, 19. lpp.). Ievietojiet 20 ml stobriņa paplašinātāju atvērtā QIAamp Mini stobriņā.

Lai nepieļautu parauga noplūdi, pārlicinieties, ka stobriņa paplašinātājs ir cieši ievietots QIAamp Mini stobriņā.

Piezīme. Sagatavojiet skalošanas stobriņu sausajai centrifugēšanai 13. posmā.

9. Uzmanīgi pielietojiet lizātu no 7. posma stobriņa paplašinātājā, kas atrodas QIAamp Mini stobriņā. Ieslēdziet vakuuma sūkni. Kad visi lizāti ir pilnībā izsūkti cauri stobriņiem, izslēdziet vakuuma sūkni un samaziniet spiedienu līdz 0 mbar. Uzmanīgi izņemiet un izmetiet stobriņa paplašinātāju.

Lūdzu, ņemiet vērā, ka lieliem parauga lizāta tilpumiem (aptuveni 18 ml, ja sākts ar 5 ml paraugu) var būt nepieciešams līdz 20 minūtēm, lai ar vakuuma spēku šķērsotu QIAamp Mini membrānu.

Lai ātri un ērti atbrīvotu vakuuma spiedienu, jāizmanto ierīce Vacuum Regulator (ietilpst iekārtā QIAvac Connecting System).

Piezīme. Lai nepieļautu krustenisko kontamināciju, ievērojiet piesardzību un nešķērsojiet blakus esošos QIAamp Mini stobriņus stobriņu paplašinātāju izņemšanas laikā.

10. Pievienojiet 600 µl Buffer ACW1 QIAamp Mini stobriņam. Atstājiet stobriņa vāciņu atvērtu un ieslēdziet vakuuma sūkni. Kad viss buferšķīdums Buffer ACW1 ir pilnībā izsūkts cauri QIAamp Mini stobriņam, izslēdziet vakuuma sūkni un samaziniet spiedienu līdz 0 mbar.
11. Pievienojiet 750 µl Buffer ACW2 QIAamp Mini stobriņam. Atstājiet stobriņa vāciņu atvērtu un ieslēdziet vakuuma sūkni. Kad viss buferšķīdums Buffer ACW2 ir pilnībā izsūkts cauri QIAamp Mini stobriņam, izslēdziet vakuuma sūkni un samaziniet spiedienu līdz 0 mbar.
12. Pievienojiet 750 µl etanola (96–100%) QIAamp Mini stobriņam. Atstājiet stobriņa vāciņu atvērtu un ieslēdziet vakuuma sūkni. Kad viss etanols ir pilnībā izsūkts cauri centrifūgas stobriņam, izslēdziet vakuuma sūkni un samaziniet spiedienu līdz 0 mbar.

13. Aizveriet QIAamp Mini stobriņa vāciņu. Izņemiet stobriņu no vakuuma kolektora un izmetiet savienotāju VacConnector. Ievietojiet QIAamp Mini stobriņu tīrā 2 ml skalošanas stobriņā (no 8. posma) un centrifugējiet pilnā ātrumā (20 000 x g; 14 000 apgr./min) 3 (±0,5) minūtes.
14. Ievietojiet QIAamp Mini stobriņu jaunā 2 ml skalošanas stobriņā. Atveriet vāciņu un inkubējiet bloku istabas temperatūrā 3 minūtes, lai pilnībā nožāvētu membrānu.
15. Ievietojiet QIAamp Mini stobriņu tīrā 1,5 ml eluēšanas stobriņā (ietilpst komplektācijā) un izmetiet 2 ml skalošanas stobriņu, ko izmantojāt 14. posmā. Uzmanīgi pievienojiet 20–150 µl buferšķīduma Buffer AVE QIAamp Mini stobriņa membrānas centrā. Aizveriet vāciņu un inkubējiet istabas temperatūrā 3 (±0,5) minūtes.

Svarīgi! Pārliedcinieties, vai buferšķīdums Buffer AVE ir līdzsvarots līdz istabas temperatūrai (15–25 °C). Ja eluēšana tiek veikta maziem tilpumiem (<50 µl), lai pilnībā eluētu saistītās nukleīnskābes, eluēšanas buferšķīdums jādozē membrānas centrā.

Eluēšanas tilpums ir mainīgs un var tikt pielāgots atbilstoši pakārtoto lietojumu vajadzībām.

Eluēšana ar mazākiem Buffer AVE tilpumiem var nodrošināt augstāku nukleīnskābes koncentrāciju, bet var samazināties kopējais iegūtais daudzums.

Atgūtais eluāta tilpums var būt par 5 µl mazāks nekā eluēšanas tilpums, kas pielietots QIAamp Mini stobriņa membrānai.

Piezīme. Ja paredzams zems NA iegūtais daudzums, eluēšanai ieteicams izmantot zemas saistīšanas stobriņu (neietilpst komplektācijā).

16. Centrifugējiet mikrocentrifūgā pilnā ātrumā (20 000 x g; 14 000 apgr./min) 1 minūti, lai eluētu nukleīnskābes.

Klasiskais protokols: cirkulējošo nukleīnskābju attīrīšana no 1–5 ml cilvēka asins plazmas

Šis protokols ir nemainīts QIAamp DSP Circulating NA Kit rokasgrāmatas 3. pārskatītā izdevuma (R3) protokols izmantošanai ar, piemēram, pastāvošajām lietotāju apstiprinātajām darbplūsmām 1-5 ml cilvēka plazmai.

Svarīga informācija pirms darba sākšanas

- Visi centrifugēšanas posmi tiek veikti istabas temperatūrā (15–25 °C).
- Starp posmiem izslēdziet vakuumu, lai nodrošinātu, ka protokola posmu laikā tiek pielietots pastāvīgs, vienmērīgs vakuums.

Piezīme. Vakuuma sūkņa spiedienam jābūt no –800 līdz –900 mbar.

- Līdzsvarojiet paraugus līdz istabas temperatūrai.
- Izmantojiet ar fosfātu buferētu fizioloģisko šķīdumu, lai sasniegtu tuvāko precīzo parauga tilpumu (1 ml līdz 5 ml).
- Sagatavojiet QIAvac 24 Plus, kā aprakstīts 19. lpp.
- Uzsildiet ūdens peldi vai sildīšanas bloku līdz 60°C lietošanai ar 50 ml centrifūgas stobriņiem 3. posmā.
- Uzsildiet sildīšanas bloku līdz 56 °C lietošanai ar 2 ml skalošanas stobriņiem 14. posmā.
- Pirms lietošanas līdzsvarojiet QIAamp Mini centrifūgas stobriņus vismaz 1 stundu līdz istabas temperatūrai.
- Pārlicinieties, ka ir sagatavoti buferšķīdumi Buffer ACB, Buffer ACW1 un Buffer ACW2 (izopropanola vai etanola pievienošana) atbilstoši norādījumiem 24. lpp.
- Pievienojiet buferšķīdumā Buffer AVE izšķīdinātu RNS nesējvidi buferšķīdumam Buffer ACL atbilstoši norādījumiem 3. tabula.

3. tabula. Buferšķiduma Buffer ACL un RNS nesējvides (izšķīdināta buferšķidumā Buffer AVE) tilpums, kas nepieciešams 1–5 ml cilvēka asins plazmas paraugu apstrādei

Iestatīšana ml plazmas	A	B	C	D	E	RNS nesējvide buferšķidumā Buffer AVE (µl)
	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml	
Paraugu skaits	Buffer ACL (ml)					
1	0,9	1,8	2,6	3,5	4,4	5,6
2	1,8	3,5	5,3	7,0	8,8	11,3
3	2,6	5,3	7,9	10,6	13,2	16,9
4	3,5	7,0	10,6	14,1	17,6	22,5
5	4,4	8,8	13,2	17,6	22,0	28,1
6	5,3	10,6	15,8	21,1	26,4	33,8
7	6,2	12,3	18,5	24,6	30,8	39,4
8	7,0	14,1	21,1	28,2	35,2	45,0
9	7,9	15,8	23,8	31,7	39,6	50,6
10	8,8	17,6	26,4	35,2	44,0	56,3
11	9,7	19,4	29,0	38,7	48,4	61,9
12	10,6	21,1	31,7	42,2	52,8	67,5
13	11,4	22,9	34,3	45,8	57,2	73,1
14	12,3	24,6	37,0	49,3	61,6	78,8
15	13,2	26,4	39,6	52,8	66,0	84,4
16	14,1	28,2	42,2	56,3	70,4	90,0
17	15,0	29,9	44,9	59,8	74,8	95,6
18	15,8	31,7	47,5	63,4	79,2	101,3
19	16,7	33,4	50,2	66,9	83,6	106,9
20	17,6	35,2	52,8	70,4	88,0	112,5
21	18,5	37,0	55,4	73,9	92,4	118,1
22	19,4	38,7	58,1	77,4	96,8	123,8
23	20,2	40,5	60,7	81,0	101,2	129,4
24	21,1	42,2	63,4	84,5	105,6	135,0

Procedūra: Klasiskais protokols

1. Pipetējiet QIAGEN Proteinase K, plazmu un buferšķīdumu Buffer ACL šādā secībā 50 ml centrifūgas stobriņā (neietilpst komplektācijā).

Iestatīšana	A	B	C	D	E
ProtK (µl)	100	200	300	400	500
Plazma (ml)	1	2	3	4	5
ACL (ml)	0,8	1,6	2,4	3,2	4

2. Aizveriet vāciņu un samaisiet, 30 sekundes ar pārtraukumiem saskalinot.

Pārlicinieties, ka stobriņā veidojas saskatāms virpulis. Lai nodrošinātu efektīvu līzi, ir svarīgi rūpīgi samaisīt paraugu un Buffer ACL, iegūstot viendabīgu šķīdumu.

Piezīme. Šajā brīdī nepārtrauciet procedūru. Nekavējoties turpiniet ar 3. posmu, lai sāktu līzes inkubāciju.

3. Inkubējiet 60 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$) temperatūrā 30 (± 2) minūtes.
4. Novietojiet stobriņu atpakaļ uz laboratorijas galdā un noskrūvējiet vāciņu.
5. Stobriņā esošajam lizātam pievienojiet Buffer ACB. Izvēlieties tilpumu atbilstoši iestatīšanai 1. posmā.

Iestatīšana	A	B	C	D	E
ACB (ml)	1,8	3,6	5,4	7,2	9

6. Aizveriet vāciņu un rūpīgi samaisiet, 30 sekundes ar pārtraukumiem saskalinot.

Pārlicinieties, ka stobriņā veidojas saskatāms virpulis. Lai nodrošinātu efektīvu līzi, ir svarīgi rūpīgi samaisīt lizātu un Buffer ACB, iegūstot viendabīgu šķīdumu.

7. Inkubējiet lizāta–Buffer ACB maisījumu stobriņā 5 (± 1) minūtes uz ledus.

8. Ievietojiet QIAamp Mini stobriņus savienotājos VacConnector iekārtā QIAvac 24 Plus (skatiet “QIAvac 24 Plus vacuum manifold uzstādīšana”, 19. lpp.). Ievietojiet 20 ml stobriņa paplašinātāju atvērtā QIAamp Mini stobriņā.

Lai nepieļautu parauga noplūdi, pārlicinieties, ka stobriņa paplašinātājs ir cieši ievietots QIAamp Mini stobriņā.

Piezīme. Sagatavojiet skalošanas stobriņu sausajai centrifugēšanai 13. posmā.

9. Uzmanīgi pielietojiet lizātu no 7. posma stobriņa paplašinātājā, kas atrodas QIAamp Mini stobriņā. Ieslēdziet vakuuma sūkni, pielietojot –800 līdz –900 mbar spiedienu. Kad visi lizāti ir pilnībā izsūkti cauri stobriņiem, izslēdziet vakuuma sūkni un samaziniet spiedienu līdz 0 mbar. Uzmanīgi izņemiet un izmetiet stobriņa paplašinātāju.

Lūdzu, ņemiet vērā, ka lieliem parauga lizāta tilpumiem (aptuveni 18 ml, ja sākts ar 5 ml paraugu) var būt nepieciešams līdz 20 minūtēm, lai ar vakuuma spēku šķērsotu QIAamp Mini membrānu.

Lai ātri un ērti atbrīvotu vakuuma spiedienu, jāizmanto ierīce Vacuum Regulator (ietilpst iekārtā QIAvac Connecting System).

Piezīme. Lai nepieļautu krustenisko kontamināciju, ievērojiet piesardzību un nešķērsojiet blakus esošos QIAamp Mini stobriņus stobriņu paplašinātāju izņemšanas laikā.

10. Pievienojiet 600 µl Buffer ACW1 QIAamp Mini stobriņam. Atstājiet stobriņa vāciņu atvērtu un ieslēdziet vakuuma sūkni. Kad viss buferšķīdums Buffer ACW1 ir pilnībā izsūkts cauri QIAamp Mini stobriņam, izslēdziet vakuuma sūkni un samaziniet spiedienu līdz 0 mbar.
11. Pievienojiet 750 µl Buffer ACW2 QIAamp Mini stobriņam. Atstājiet stobriņa vāciņu atvērtu un ieslēdziet vakuuma sūkni. Kad viss buferšķīdums Buffer ACW2 ir pilnībā izsūkts cauri QIAamp Mini stobriņam, izslēdziet vakuuma sūkni un samaziniet spiedienu līdz 0 mbar.

12. Pievienojiet 750 µl etanola (96–100%) QIAamp Mini stobriņam. Atstājiet stobriņa vāciņu atvērtu un ieslēdziet vakuuma sūkni. Kad viss etanols ir pilnībā izsūkts cauri centrifūgas stobriņam, izslēdziet vakuuma sūkni un samaziniet spiedienu līdz 0 mbar.
13. Aizveriet QIAamp Mini stobriņa vāciņu. Izņemiet stobriņu no vakuuma kolektora un izmetiet savienotāju VacConnector. Ievietojiet QIAamp Mini stobriņu tīrā 2 ml skalošanas stobriņā (no 8. posma) un centrifugējiet pilnā ātrumā (20 000 x g; 14 000 apgr./min) 3 (±0,5) minūtes.
14. Ievietojiet QIAamp Mini stobriņu jaunā 2 ml skalošanas stobriņā. Atveriet vāciņu un inkubējiet bloku 56 °C (± 1 °C) temperatūrā 10 (± 1) minūtes, lai pilnībā nožāvētu membrānu.
15. Ievietojiet QIAamp Mini stobriņu tīrā 1,5 ml eluēšanas stobriņā (ietilpst komplektācijā) un izmetiet 2 ml skalošanas stobriņu, ko izmantojāt 13. posmā. Uzmanīgi pievienojiet 20–150 µl buferšķīduma Buffer AVE QIAamp Mini stobriņa membrānas centrā. Aizveriet vāciņu un inkubējiet istabas temperatūrā 3 (±0,5) minūtes.

Svarīgi! Pārliecinieties, vai buferšķīdums Buffer AVE ir līdzsvarots līdz istabas temperatūrai (15–25 °C). Ja eluēšana tiek veikta maziem tilpumiem (<50 µl), lai pilnībā eluētu saistītās nukleīnskābes, eluēšanas buferšķīdums jādozē membrānas centrā.

Eluēšanas tilpums ir mainīgs un var tikt pielāgots atbilstoši pakārtoto lietojumu vajadzībām.

Eluēšana ar mazākiem Buffer AVE tilpumiem var nodrošināt augstāku nukleīnskābes koncentrāciju, bet var samazināties kopējais iegūtais daudzums.

Atgūtais eluāta tilpums var būt par 5 µl mazāks nekā eluēšanas tilpums, kas pielietots QIAamp Mini stobriņam.

Piezīme. Ja paredzams zems NA iegūtais daudzums, eluēšanai ieteicams izmantot zemas saistīšanas stobriņu (neietilpst komplektācijā).

16. Centrifugējiet mikrocentrifūgā pilnā ātrumā (20 000 x g; 14 000 apgr./min) 1 minūti, lai eluētu nukleīnskābes.

Kvalitātes kontrole

Atbilstoši ISO prasībām sertificētajai QIAGEN kvalitātes vadības sistēmai katra QIAamp DSP Circulating NA Kit partija ir pārbaudīta, salīdzinot ar iepriekš noteiktām specifikācijām, lai nodrošinātu pastāvīgu produkta kvalitāti.

Ierobežojumi

Sistēmas veiktspēja cirkulējošo starpšūnu nukleīnskābju izolēšanā ir noteikta, izmantojot cilvēka plazmas paraugus, kas iegūti no tālāk norādītajiem asins ņemšanas stobriņiem:

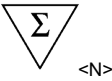












- K2-EDTA (Beckton Dickinson, kat. Nr. 367525)
- PAXgene Blood ccfDNA Tube (PreAnlytiX, kat. Nr. 768115)
- Cell-Free DNA BCT (Streck, kat. Nr. 218962)

Lietotāja pienākums ir pārbaudīt sistēmas veiktspēju attiecībā uz visām viņu laboratorijā izmantotajām procedūrām, kas nav ietvertas QIAGEN veiktspējas pētījumos.

Lai samazinātu negatīvas ietekmes uz diagnostikas rezultātiem risku, pakārtotiem lietojumiem ir jāizmanto atbilstoši kontrolmateriāli. Lai iegūtu papildu informāciju par validāciju, ieteicams skatīt Starptautiskās konferences par tehnisko prasību saskaņošanu (International Conference on Harmonization, ICH) sagatavotās vadlīnijas ICH Q2(R1) "Analīžu procedūru validācija: teksts un metodoloģija".

Visi iegūtie diagnostikas rezultāti jāinterpretē kopā ar citiem klīniskām vai laboratoriskām atradnēm.

Simboli

Simbols	Simbola definīcija
	Satur reaģentus, kuru daudzums ir pietiekams <N> testu veikšanai
	Izlietot līdz
	In vitro diagnostikas medicīnas ierīce
	Saņēmot
	Atvērt pēc piegādes; uzglabāt QIAamp Mini Spin stobriņus 2–8 °C temperatūrā
	Kataloga numurs
	Numurs
	Partijas numurs
	Materiāla numurs
	Komponenti
	Tilpums
	Jāpievieno
	Temperatūras ierobežojums



Ražotājs



Skatīt lietošanas norādījumus



Pēc etanola pievienošanas pudeles saturam pierakstiet pašreizējo datumu



Etanols



Pēc izopropanola pievienošanas pudeles saturam pierakstiet pašreizējo datumu



Izopropanols



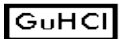
Satur



Izraisa



Guanidīna tiocianāts



Guanidīna hidrohlorīds



BRIJ 58



Globālais tirdzniecības identifikācijas numurs

Atsauces

1. Levy, B. (2019) *Prenatal Diagnosis*. Methods in Molecular Biology. 2nd ed. New York: Humana Press.
2. Hahn, S. and Zimmermann, B.G. (2010) Cell-free DNA in maternal plasma: has the size-distribution puzzle been solved? *Clin Chem*. **56**, 1210-1211.
3. Anfossi, S., Babayan, A., Pantel, K., and Calin, G. (2018) Clinical utility of circulating non-coding RNAs - an update. *Nat Rev Clin Oncol* **15**, 541-563.
4. Babayan, A. and Pantel, K. (2018) Advances in liquid biopsy approaches for early detection and monitoring of cancer. *Genome Med* **10**, 21.
5. Terrinoni, A., et al (2019) The circulating miRNAs as diagnostic and prognostic markers. *Clin Chem Lab Med*. **57**, 932-953.

Kontaktinformācija

Lai saņemtu tehnisku palīdzību un papildu informāciju, lūdzu, apmeklējiet mūsu tehniskā atbalsta centra vietni www.qiagen.com vai zvaniet kādai no QIAGEN tehnisko pakalpojumu dienesta nodaļām vai vietējiem izplatītājiem (skatiet aizmugurējo vāku vai apmeklējiet vietni www.qiagen.com).

Norādījumi par problēmu novēršanu

Šie norādījumi par problēmu novēršanu var palīdzēt atrisināt radušās problēmas. Kontaktinformāciju skatiet uz aizmugurējā vāka vai apmeklējiet tīmekļa vietni www.qiagen.com.

Komentāri un ieteikumi

Eluātā ir ļoti maz vai nav nukleīnskābju

- | | | |
|----|--|--|
| a) | Nestabilizētas plazmas lietošana | Nestabilizētas plazmas paraugi var izraisīt paātrinātu DNS noārdīšanos. Mēs iesakām ievērot CEN/TS 16835-3:2015. Atkārtojiet attīrīšanas procedūru ar jauniem paraugiem. |
| b) | Palielināts laiks starp asins ņemšanu un plazmas sagatavošanu | Kodolotas asins šūnas var sadalīties un atbrīvot plazmā genoma DNS, atšķaidot mērķa nukleīnskābi. |
| c) | Paraugi ir sasaldēti un atkausēti vairāk nekā vienu reizi. | Jāizvairās no vairākkārtējas paraugu sasaldēšanas un atkausēšanas, jo tas var izraisīt DNS noārdīšanos. Vienmēr izmantojiet svaigus paraugus vai paraugus, kuri ir atkausēti tikai vienu reizi. |
| d) | Zema mērķa DNS koncentrācija paraugos | Plazmas paraugi ir pārāk ilgi atstāti istabas temperatūrā. Atkārtojiet attīrīšanas procedūru ar jauniem paraugiem
Piezīme. Dažiem cilvēkiem plazmā var būt zema starpšūnu nukleīnskābju koncentrācija; tādā gadījumā jāizvēlas palielināts parauga tilpums un zems eluāta tilpums. |
| e) | Neefektīva parauga līze buferšķīdumā Buffer ACL | Ja komponents QIAGEN Proteinase K ilgāku laiku tiek pakļauts paaugstinātas temperatūras iedarbībai, tas var zaudēt aktivitāti. Atkārtojiet procedūru, izmantojot jaunu paraugu un svaigu QIAGEN Proteinase K. |
| f) | Buffer ACL–RNS nesējvides maisījums nav pietiekami samaisīts | Samaisiet buferšķīdumu Buffer ACL ar RNS nesējvidi, uzmanīgi apgriežot Buffer ACL–RNS nesējvides stobriņu vismaz 10 reizes. |
| g) | Lietots etanols ar zemu procentuālo vērtību, nevis 96–100% | Atkārtojiet attīrīšanas procedūru ar jauniem paraugiem un 96–100% etanolu. Neizmantojiet denaturētu spirtu, kas satur papildvielas, piemēram, metanolu vai metilētilketonu. |
| h) | Buferšķīdums Buffer ACB nav pareizi sagatavots | Pārbaudiet, vai buferšķīduma Buffer ACB koncentrāts ir atšķaidīts ar pareizu izopropanola tilpumu (nevis ar etanolu; skatiet 24. lpp.). |
| i) | Buferšķīdums Buffer ACW1 vai Buffer ACW2 nav pareizi sagatavots | Pārbaudiet, vai buferšķīdumu Buffer ACW1 un Buffer ACW2 koncentrāti ir atšķaidīti ar pareizu etanola tilpumu (skatiet 24. lpp.). Atkārtojiet attīrīšanas procedūru ar jauniem paraugiem. |
| j) | Buferšķīdums Buffer ACW1 vai Buffer ACW2 sagatavots ar 70% etanolu | Pārbaudiet, vai buferšķīdumu Buffer ACW1 un Buffer ACW2 koncentrāti ir atšķaidīti ar 96–100% etanolu (skatiet 24. lpp.). Atkārtojiet attīrīšanas procedūru ar jauniem paraugiem. |

Komentāri un ieteikumi

DNS vai RNS labi nereaģē pakārtotās fermentatīvajās reakcijās

- a) Eluātā ir maz vai nav DNS Iespējamais iemesls skatiet iepriekš sadaļā "Eluātā ir ļoti maz vai nav nukleīnskābju". Ja iespējams, palieliniet reakcijai pievienotā eluāta tilpumu.
- b) Izmantots nepiemērots eluēšanas tilpums Nosakiet pakārtotajam lietojumam piemēroto eluāta maksimālo tilpumu. Samaziniet vai palieliniet pievienotā eluāta tilpumu atbilstoši pakārtotajam lietojumam. Eluēšanas tilpumu var pielāgot proporcionāli.
Piezīme. Eluēšana ar mazākiem Buffer AVE tilpumiem var nodrošināt augstāku nukleīnskābes koncentrāciju, bet var samazināties kopējais iegūtais daudzums.
- c) Bufersķīdumi nav rūpīgi samaisīti Skalošanas bufersķīduma Buffer ACW2 sāls un etanola komponenti var būt atdalījušies, ja bufersķīdums starp sērījām ir pārāk ilgi stāvējis. Pirms katras sērījas vienmēr rūpīgi samaisiet bufersķīdumus.
- d) Traucējumi RNS nesējvides dēļ Ja RNS nesējvides klātbūtnē eluātā rada pakārtotās fermentācijas reakcijas traucējumus, var būt nepieciešams samazināt RNS nesējvides daudzumu vai pilnībā atteikties no tās.

Vispārējā rīkošanās

- a) Nosprostots QIAamp Mini stobriņš Ja plūsmas ātrums ir samazināts, var palielināt vakuuma laiku.
Alternatīva iespēja ir aizvērt vārstu VacValve, ja tas tiek izmantots, un uzmanīgi izņemt stobriņa paplašinātāja–VacConnector–VacValve bloku no QIAamp Mini stobriņa, nekādā apmērā nezaudējot lizātu stobriņa paplašinātājā.
Izņemiet QIAamp Mini stobriņu no vakuuma kolektora, ievietojiet to 2 ml skalošanas stobriņā un centrifugējiet pilnā ātrumā, līdz paraugs ir pilnībā šķērsojis membrānu. Nomainiet stobriņa paplašinātāja–VacConnector–VacValve bloku, kurā atrodas atlikušais lizāts. Ieslēdziet vakuuma sūkni, atveriet vārstu VacValve un turpiniet atlikušā lizāta ielādi.
Ja QIAamp Mini Column joprojām nosprostojas, atkārtojiet iepriekš aprakstīto procedūru.
Atkārtotas sasaldēšanas un atkausēšanas dēļ plazmā, iespējams, ir izveidojušies krioprecipitāti. Tie var nosprostot QIAamp Mini stobriņu. Neizmantojiet plazmu, kas sasaldēta un atkausēta vairāk nekā vienu reizi.
Ja ir redzami krioprecipitāti, dzidriniet paraugu, centrifugējot 5 minūtes ar ātrumu 16 000 x g.
- b) Mainīgi eluēšanas tilpumi Dažādi paraugi var ietekmēt gala eluāta tilpumu. Atgūtais eluāta tilpums var būt par 5 µl mazāks nekā eluēšanas tilpums, kas pielietots QIAamp Mini stobriņam.
- c) Nav sasniegts vakuuma spiediens –800 līdz –900 mbar Ir nolietojusies QIAvac vāka blīve. Vizuāli pārbaudiet kolektora blīvi un, ja nepieciešams, nomainiet.
Nolietojusies vārsti VacValves. Izņemiet visus vārstus VacValves un ievietojiet savienotājus VacConnectors tieši Luer tipa paplašinātājos. Ievietojiet QIAamp Mini stobriņus savienotājos VacConnectors, aizveriet stobriņu vāku un ieslēdziet vakuumu. Pārbaudiet, vai ir sasniegts vakuuma spiediens. Ja nepieciešams, nomainiet vārstus VacValves.
Savienojumā ar vakuuma sūkni ir sūce. Aizveriet visus Luer tipa paplašinātājus ar Luer tipa vāciņiem un ieslēdziet vakuuma sūkni. Kad sūknis ir ieslēgts, pārbaudiet, vai vakuuma spiediens ir stabils (un vai ierīces Vacuum Regulator vārsts ir aizvērts). Ja nepieciešams, nomainiet savienojumus starp sūkni un vakuuma kolektoru.
Ja vakuuma spiediens joprojām nav sasniegts, nomainiet vakuuma sūkni pret spēcīgāku.

A pielikums. Ieteikums asins plazmas atdalīšanai un uzglabāšanai

Lai stabilizētu asins ņemšanas stobriņus (piem., PAXgene ccfDNA stobriņu vai Streck Cell-Free DNA stobriņu), lūdzu, ievērojiet ražotāja norādījumus attiecībā uz plazmas atdalīšanu un uzglabāšanu. Ieteicams pārbaudīt šos uzglabāšanas apstākļus kombinācijā ar jūsu konkrēto pakārtoto lietojumu un mērķi.

Nestabilizētu BCT gadījumā mēs iesakām ievērot CEN/TS 16835-3:2015.

Lai izolētu cirkulējošās starpšūnu nukleīnskābes no asins paraugiem, mēs iesakām ievērot šo protokolu, kurā ietilpst liela gravitācijas spēka centrifugēšanas posms, lai atdalītu šūnu atliekas, tādējādi samazinot šūnu vai genoma DNS un RNS daudzumu paraugā.

1. Ievietojiet EDTA pilnasinis BD Vacutainer® stobriņos (vai citos primārajos asins stobriņos, kas satur EDTA kā antikoagulantu) centrifūgā, kas atdzesēta līdz 4 °C un aprīkota ar svārstīgo rotoru un kausiem.
2. Centrifugējiet asins paraugus 10 minūtes ar ātrumu 1900 x g (3000 apgr./min) 4 °C temperatūrā.
3. Uzmanīgi aspirējiet plazmas virsslāni, neaizskarot plazmas– šūnu saskares slāni. No viena 10 ml primārā asins stobriņa var iegūt aptuveni 4–5 ml plazmas.

Piezīme. Šajā stadijā plazmu var izmantot cirkulējošo nukleīnskābju ekstrakcijai. Tomēr nākamā liela ātruma centrifugēšana atdalīs papildu šūnu atliekas un cirkulējošo nukleīnskābju piesārņojumu ar genoma DNS un RNS, kas iegūti no bojātām kodolotām asins šūnām.

4. Aspirētā plazma tiek pārnesta uz svaigu centrifūgas stobriņu.
5. Centrifugējiet plazmas paraugus 10 minūtes ar ātrumu 16 000 x g (fiksēta leņķa rotorā) 4 °C temperatūrā.

Tā tiks atdalītas papildu šūnu nukleīnskābes, kas piestiprinātas šūnu atlikumiem.

-
6. Uzmanīgi noņemiet virsslāni un pārnesiet jaunā stobriņā, nepieskaroties granulām.
 7. Ja plazma tajā pašā dienā tiks izmantota nukleīnskābju ekstrakcijai, uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā līdz turpmākai apstrādei. Ilgākas uzglabāšanas gadījumā plazmas alikvotās daļas no stabilizētiem vai nestabilizētiem asins ņemšanas stobriņiem var uzglabāt –20 °C temperatūrā (ja mērķis ir DNS) vai –80 °C temperatūrā (ja mērķis ir RNS) vismaz 4 nedēļas. Pirms plazmas izmantošanas nukleīnskābju ekstrakcijai atkausējiet plazmas stobriņus istabas temperatūrā.
 8. **Papildiespēja.** Lai atdalītu krioprecipitātus, centrifugējiet plazmas paraugus 5 minūtes ar ātrumu 16 000 x g (fiksēta leņķa rotorā).

Papildiespēja. Pārnesiet virsslāni jaunā stobriņā un tad sāciet cirkulējošo nukleīnskābju ekstrakcijas protokola izpildi.

B pielikums. Vispārīgas piezīmes par RNS apstrādi

RNS apstrāde

Ribonukleāzes (RNāzes) ir ļoti stabili un aktīvi enzīmi, kuru darbībai parasti nav nepieciešami kofaktori. RNāzes ir grūti inaktivējamas, un pat ar nelielu daudzumu pietiek, lai noārdītu RNS, tāpēc nedrīkst izmantot plastmasas vai stikla piederumus, iepriekš nenovēršot iespējamo kontamināciju ar RNāzi. Jārīkojas ļoti uzmanīgi, lai RNāzes nejausī nenokļūtu RNS paraugā attīrīšanas procedūras laikā vai pēc tās. Lai izveidotu un uzturētu vidi bez RNāzēm, strādājot ar RNS, priekšapstrādes laikā un lietojot vienreizlietojamus un vairākkārt lietojamus traukus un šķīdumus, jāveic tālāk norādītie piesardzības pasākumi.

Vispārējā rīkošanās

Strādājot ar RNS, vienmēr jāizmanto atbilstoši mikrobioloģiski, aseptiski paņēmieni. Uz rokām un putekļu daļiņām var būt baktērijas un pelējuma sēnītes, kas ir visbiežāk sastopamie kontaminācijas ar RNāzi avoti. Strādājot ar reaģentiem un RNS paraugiem, vienmēr valkājiet lateksa vai vinila cimdus, lai novērstu kontamināciju ar RNāzi no ādas virsmas vai putekļaina laboratorijas aprīkojuma. Bieži mainiet cimdus un, kad vien iespējams, turiet stobriņus noslēgtus. Kad alikvotās daļas tiek pipetētas pakārtotiem lietojumiem, turiet attīrīto RNS uz ledus.

Vienreizlietojami plastmasas piederumi

Visas procedūras laikā ieteicams lietot sterilus, vienreizlietojamus polipropilēna piederumus bez RNāzes.

Informācija par pasūtīšanu

Produkts	Saturs	Kat. nr.
QIAamp DSP Circulating NA Kit (50)	50 paraugu sagatavošanai: QIAamp Mini stobriņi, stobriņu paplašinātāji, savienotāji VacConnectors, QIAGEN Proteinase K, reaģenti, buferšķīdumi un paraugu ņemšanas stobriņi	61504
Piederumi		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold*	Vakuuma kolektors 1–24 centrifūgas stobriņu apstrādei: QIAvac 24 Plus vacuum manifold, Luer tipa spraudņi un ātrie savienotāji	19413
Vacuum Pump*	Universāls vakuuma sūknis	84010 [ASV un Kanāda] 84000 [Japāna] 84020 [pārējās valstis]
QIAvac Connecting System*	Sistēma vakuuma kolektora savienošanai ar vakuuma sūkni: ietilpst paplāte, atkritumu pudeles, caurulītes, savienojumi, vārsti, mērierīce un 24 vārsti VacValves	19419

* Lietošanai ar vakuuma protokoliem.

Jaunāko informāciju par licencēšanu un produktu juridiskās atrunas skatiet attiecīgā QIAGEN komplekta rokasgrāmatā vai lietotāja instrukcijā. QIAGEN komplektu lietotāja rokasgrāmatas un lietotāja instrukcijas ir pieejamas vietnē www.qiagen.com, kā arī tās var pieprasīt QIAGEN tehniskā atbalsta centros vai pie vietējiem izplatītājiem.

Rokasgrāmatas pārskatīšanas vēsture

Datums	Izmaiņas
R4 09.2019	Izmaiņas sadaļā Paredzētais lietojums tikai attiecībā uz starpšūnu nukleīnskābju iegūšanu no cilvēka plazmas. Protokola "Breeze" iekļaušana. Nav iekļauti protokoli Urine un miRNA. Drošības informācijas atjauninājums.

Ierobežotās licences līgums komplektam QIAamp DSP Circulating NA Kit

Šī produkta izmantošana liecina par katra produkta pircēja vai lietotāja piekrišanu tālāk minētajiem nosacījumiem.

1. Šo produktu drīkst lietot tikai saskaņā ar kopā ar produktu nodrošinātajiem protokoliem un šo rokasgrāmatu un tikai kopā ar sastāvdaļām, kas ietilpst šajā komplektā. Uzņēmums QIAGEN nepiešķir nekāda veida licenci uz nevienu no tā intelektuālajiem īpašumiem, lai šajā komplektā ietvertās sastāvdaļas izmantotu kopā ar jebkādam sastāvdaļām, kas neietilpst šajā komplektā, vai ar tām apvienotu, izņemot gadījumus, kas aprakstīti kopā ar produktu piegādātajos protokolos un šajā rokasgrāmatā, kā arī papildu protokolos, kas pieejami tīmekļa vietnē www.qiagen.com. Dažus no šiem papildu protokoliem QIAGEN lietotāji nodrošina QIAGEN lietotājiem. Šie protokoli nav rūpīgi testēti vai optimizēti uzņēmumā QIAGEN. Uzņēmums QIAGEN nedz apliecina, nedz garantē, ka tie nepārkāpj trešo personu tiesības.
2. Uzņēmums QIAGEN nesniedz citas garantijas, izņemot skaidri norādītās licences, ka šis komplekts un/vai tā lietošana neaizskar trešo personu tiesības.
3. Šis komplekts un tā sastāvdaļas ir licencētas vienreizējai lietošanai, un tās nedrīkst izmantot atkārtoti, atjaunot vai pārdot tālāk.
4. Uzņēmums QIAGEN īpaši atsakās no jebkādam citām tiesām vai netiesām licencēm, kas nav skaidri norādīta.
5. Komplekta pircējs un lietotājs piekrīt neveikt un neatļaut citiem veikt nekādas darbības, kas varētu izraisīt vai veicināt jebkuras no iepriekš aizliegtajām darbībām. Uzņēmums QIAGEN var pieprasīt šī ierobežotā licences līguma aizliegumu īstenošanu jebkurā tiesā un apņemas atgūt visus savus izmeklēšanas un tiesas izdevumus, ieskaitot advokātu honorārus, kas radušies, īstenojot šo ierobežoto licences līgumu vai jebkuru no uzņēmuma intelektuālā īpašuma tiesībām saistībā ar komplektu un/vai tā sastāvdaļām.

Jaunākos licences nosacījumus skatiet tīmekļa vietnē www.qiagen.com.

Preču zīmes: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp® (QIAGEN Group); BD Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); Tween® (ICI Americas Inc.). Šajā dokumentā minētie reģistrētie nosaukumi, preču zīmes u. c. ir uzskatāmi par aizsargātiem ar likumu arī tad, ja tas nav īpaši norādīts.

1118364 10/2019 HB-0466-005 © 2019 QIAGEN, visas tiesības aizsargātas.

