

2019. szeptember

QIAamp[®] DSP Circulating NA Kit Használati útmutató (kézikönyv)

1-es verzió



50

IVD

CE

REF

61504



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R4 MAT

1118364HU

Tartalomjegyzék

Alkalmazási terület	4
Összefoglalás és magyarázat	4
Az eljárás elve	5
Mintatérfogatok	5
A minták lízise	7
Adszorpció a QIAamp Mini oszlop membránján.....	7
Reziduális szennyezőanyagok eltávolítása	7
Tiszta nukleinsavak kivonása	8
A nukleinsavak hozama és mérete	8
A protokollok leírása.....	9
Szállított anyagok	10
A kit tartalma	10
Szükséges, de nem biztosított anyagok	11
Figyelmeztetések és óvintézkedések	12
A reagensek tárolása és kezelése.....	15
Mintatárolás és mintakezelés	16
Eljárás	17
A pufferek és reagensek előkészítése.....	24
Breeze protokoll: Cirkuláló nukleinsavak tisztítása 1–5 ml humán vérplazmából	27
Klasszikus protokoll: Cirkuláló nukleinsavak tisztítása 1–5 ml humán vérplazmából	32
Minőség-ellenőrzés	37
Korlátozások.....	37

Szimbólumok	38
Irodalomjegyzék	40
Kapcsolatfelvételi adatok	40
Hibaelhárítási útmutató	41
„A” függelék: Javaslat a vérplazma szétválasztására és tárolására	44
„B” függelék: Általános megjegyzések az RNS kezeléséről	46
Rendelési információk	47
A kézikönyv átdolgozási előzményei	48

Alkalmazási terület

A QIAamp DSP Circulating NA Kit rendszer szilikagélmembrán-technikát (QIAamp technológia) alkalmaz a cirkuláló, sejtmentes DNS és RNS humán vérplazmamintákból való izolálásához és tisztításához.

Ezt a terméket csak a molekuláris biológiai technikák területén járatos, képzett szakemberek, pl. labortechnikusok és orvosok használhatják.

A QIAamp DSP Circulating NA Kit in vitro diagnosztikai használatra szolgál.

Összefoglalás és magyarázat

A szabadon cirkuláló nukleinsavak rendszerint rövid fragmentumokként, <1000 bp (DNS), <1000 nukl. (RNS), vagy akár egészen rövid, 20 nukl. (miRNS-ek) formájában vannak jelen a humán vérplazmában. A humán vérplazmában szabadon cirkuláló nukleinsavak koncentrációja rendszerint alacsony, és jelentős mértékben változhat az egyes személyek között, 1–100 ng/ml tartományban az emberi mintákban (1–5).

A QIAamp DSP Circulating NA Kit lehetővé teszi a cirkuláló nukleinsavak vérplazmából való hatékony tisztítását. A minták egyaránt lehetnek frissek vagy fagyasztottak. A hosszabbító csövek és a vákuumos feldolgozás a QIAvac 24 Plus készüléken akár 5 ml-es kiindulási mintatérfogatokat is enged, és a 20–150 µl közötti rugalmasan változtatható elúciós térfogatok a csak kis koncentrációban jelen lévő nukleinsav típusok koncentrállását is lehetővé teszik.

A szabadon cirkuláló genomi DNS vagy RNS eluátum azonnali használatra kész downstream alkalmazások számára vagy tárolásra alkalmas. A The QIAamp DSP Circulating NA Kit hatékonyan eltávolítja a proteineket, nukleázokat és egyéb szennyeződéseket.

Az eljárás elve

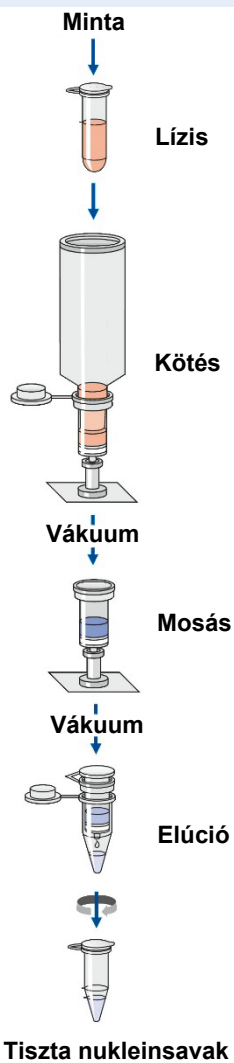
A QIAamp DSP Circulating NA eljárás 4 lépésből áll (lízís, kötés, mosás és elúció), és a QIAamp Mini oszlopok használatával kivitelezhető a QIAvac rendszeren. A nagy teljesítményű eljárás segít minimalizálni a minták közötti keresztszennyezést, és növeli a felhasználók biztonságát a potenciálisan fertőző minták kezelése közben.

Az egyszerű procedúra alkalmas akár 24 minta egyidejű feldolgozására, kevesebb mint 2 órán belül.

Mintatérfogatok

A QIAamp Mini oszlopok egészen rövid, akár 20 nukleotidnyi nukleinsav-fragmentumokat is képesek megkötni, a hozam azonban a mintatérfogattól és a mintában jelen lévő cirkuláló nukleinsavak koncentrációjától függ (tipikusan 1–100 ng/ml vérplazmában). A QIAamp DSP Circulating NA eljárást legfeljebb 5 ml-es mintatérfogatokra optimalizálták.

A QIAamp DSP Circulating NA Kit eljárása



1. ábra: A QIAamp DSP Circulating NA Kit eljárásának áttekintése

A minták lízise

A biológiai folyadékokban szabadon cirkuláló nukleinsavak általában proteinekhez kötődve vagy vezikulumokba csomagolva találhatók, és egy hatékony roncsolási (lízis) lépés szükséges ahhoz, hogy felszabadítsa a nukleinsavakat a QIAamp Mini oszlophoz való szelektív kötődéshez. Ezért a mintákat erősen denaturáló körülmények között, magas hőmérsékleten, Proteinase K és Buffer ACL jelenlétében roncsolják, ami biztosítja a DNázok és RNázok inaktiválódását és a proteinekhez, lipidekhez és vezikulumokhoz kötődött nukleinsavak szabadabbá válását.

Adszorpció a QIAamp Mini oszlop membránján

A cirkuláló nukleinsavak membránhoz való optimális kötődésének érdekében a kötési feltételeket módosítják azzal, hogy Buffer ACB-t adnak a lizátumhoz. A lizátumokat ezután egy QIAamp Mini oszlopra pipettázzák, és a nagy térfogatú minta cirkuláló nukleinsavait adszorbalják a szilikamembránra, ahogy a lizátumot átszívja a membránon a vákuumnyomás. A só- és pH-viszonyok biztosítják, hogy a proteinek és egyéb szennyezőanyagok nagy része – amelyek máskülönben gátolhatják a PCR és egyéb downstream enzimreakciót – ne maradjon vissza a QIAamp Mini oszlop membránján.

A protokoll kivitelezéséhez egy vákuum-elosztócső (pl. a QIAvac 24 Plus a QIAvac Connecting System csatlakoztatórendszerrel) és egy ~800–900 mbar értékű vákuum létrehozására képes vákuumszivattyú (pl. a QIAGEN® Vacuum Pump) szükséges. A vákuumnyomás könnyű monitorozásához és a kényelmes vákuumcsökkentéshez Vacuum Regulator használandó (a QIAvac Connecting System csatlakoztatórendszer része).

Reziduális szennyezőanyagok eltávolítása

A nukleinsavak a membránhoz kötődve maradnak, miközben a szennyezőanyagok hatékonyan eltávolíthatók 3 mosási lépés közben.

Tiszta nukleinsavak kivonása

Az elúciót Buffer AVE használatával végzik. A nagy tisztaságú cirkuláló nukleinsavakat egy lépésben eluálják a szoba-hőmérsékletűre melegített Buffer AVE-be. Ehhez rugalmasan alkalmazható 50–150 µl-es elúciós térfogat. Ha magasabb nukleinsav-koncentráció szükséges, az elúciós puffer térfogata akár 20 µl-re is csökkenthető. Az 50 µl-nél kisebb elúciós térfogatok koncentráltabb nukleinsav-eluátumokhoz vezetnek, azonban alacsonyabb teljes hozamot eredményezhetnek.

A visszanyert eluátum térfogata akár 5 µl-rel is kevesebb lehet az oszlopra felvitt eluáló puffer térfogatánál.

A nukleinsavak hozama és mérete

A biológiai mintákból izolált szabadon cirkuláló nukleinsavak hozama rendszerint 1 µg alatt marad, ezért nehéz spektrofotométer segítségével meghatározni. A QIAamp DSP Circulating NA Kit segítségével egy mintából kinyert cirkuláló DNS és RNS abszolút hozama változhat a különböző személyektől származó minták között, és egyéb tényezőktől (pl. bizonyos betegségi állapotoktól) is függ. Továbbá, valószínűleg a kivont nukleinsavak között jelen lévő hordozó RNS fog dominálni az UV-abszorbancia-leolvasásoknál (lásd 25. oldal). A hozamok meghatározásához kvantitatív amplifikációs módszerek ajánlottak.

A QIAamp DSP Circulating NA Kit segítségével megtisztított cirkuláló nukleinsavak méret szerinti eloszlása ellenőrizhető agaróz gélelektroforézissel vagy egy célspecifikus jelölt próbához⁵ való hibridizálással, illetve egy mikrofluid elektroforézis-oldattal (pl. Agilent Bioanalyzer).

A protokollok leírása

Ebben a kézikönyvben két különböző protokoll szerepel.

A „Breeze protokoll: Cirkuláló nukleinsavak tisztítása 1–5 ml humán vérplazmából” (27. oldal) legfeljebb 5 ml vérplazma 1 ml-es lépésekben történő feldolgozására szolgál, és rövid kézimunka- és teljes munkaciklusidőkre lett optimalizálva.

A „Klasszikus protokoll: Cirkuláló nukleinsavak tisztítása 1–5 ml humán vérplazmából” (32. oldal) is legfeljebb 5 ml vérplazma 1 ml-es lépésekben történő feldolgozására szolgál, és a QIAamp DSP circulating NA Kit kézikönyv 3. átdolgozásában (R3) található protokoll változatlan formáját alkotja.

Szállított anyagok

A kit tartalma

QIAamp DSP Circulating NA Kit			(50)
Katalógusszám			61504
Készítmények száma			50
QIAamp Mini	QIAamp Mini columns with Wash Tubes (QIAamp Mini oszlopok mosócsövekkel) (WT) (2 ml)	COL	50
EXT	Column Extenders (Oszloptoldalékok) (20 ml)	COL EXT	2 × 25
WT	Wash Tubes (Mosócsövek) (2 ml)	WASH TUBE	50
ET	Elution Tubes (Elúciós csövek) (1,5 ml)	ELU TUBE	50
VC	VacConnectors (Vákuumcsatlakozók)	VAC CON	50
ACL*	Lysis Buffer (Lízispuffer)*	LYS BUF	220 ml
ACB*	Binding Buffer (Kötőpuffer)* (koncentrátum)	BIND BUF CONC	300 ml
ACW1*	Wash Buffer 1 (1. mosópuffer)* (koncentrátum)	WASH BUF 1 CONC	19 ml
ACW2†	Wash Buffer 2 (2. mosópuffer)† (koncentrátum)	WASH BUF 2 CONC	13 ml
AVE†	Elution Buffer (Eluáló puffer)† (lila kupakkal)	ELU BUF	5 × 2 ml
PROTK	QIAGEN Proteinase K (Proteinase K)	PROTK	4 × 7 ml
Carrier (Hordozó)	Carrier RNA (Hordozó RNS) (vörös kupakkal)	CAR RNA	310 µg
	Kézikönyv	HB	1

* Kaotróp sót tartalmaz. Figyelmeztetések és óvintézkedések, lásd 12. oldal.

† Tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaz.

Szükséges, de nem biztosított anyagok

Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információk a megfelelő biztonsági adatlapokon (safety data sheets, SDS-ek) találhatóak, amelyek az adott termék gyártójától szerezhetőek be.

Győződjön meg róla, hogy az eszközöket a gyártó ajánlásai szerint ellenőrizték és kalibrálták.

Mindkét protokollhoz szükséges

- Pipetták (állítható)
- Steril pipettahegyek (aeroszol gáttal ellátott pipettahegyek használatát javasoljuk, amelyek segítenek elkerülni a keresztszennyeződést)
- 50 ml-es centrifugacsövek 56 °C-on vagy 60 °C-on tartására képes vízfürdő vagy fűtőblokk*
- 2 ml-es mosócsövek 56 °C-on tartására képes fűtőblokk vagy hasonló (csak a klasszikus protokollhoz)*
- Mikrocentrifuga (rotorral, 2 ml-es csövekhez)*
- 50 ml-es centrifugacsövek
- QIAvac 24 Plus vacuum manifold (katalógusszám: 19413)
- QIAvac Connecting System (katalógusszám: 19419) vagy azzal egyenértékű
- Vacuum Pump (katalógusszám: 84010 [USA és Kanada], 84000 [Japán], vagy 84020 [a világ többi részén]), vagy azzal egyenértékű szivattyú, amely képes -800 és -900 mbar közötti vákuum létrehozására
- (96–100%-os) etanol†
- (100%-os) izopropanol
- Jégzúzalék (csak a „Klasszikus protokoll: Cirkuláló nukleinsavak tisztítása 1–5 ml humán vérplazmából” esetén.)
- Egyes mintáknál szükség lehet foszfátpufferes sóoldattal (phosphate-buffered saline, PBS) való hígításra

* Ellenőrizze, hogy a műszereket a gyártó ajánlásai szerint ellenőrizték és kalibrálták-e.

† Ne használjon denaturált alkoholt; a denaturált alkohol más anyagokat, például metanolt vagy metil-etil-ketont is tartalmaz.

- Opcionális: VacValves (katalógusszám: 19408)

Figyelmeztetések és óvintézkedések

In vitro diagnosztikai használatra

Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információjáért, kérjük olvassa el a megfelelő biztonsági adatlapokat (safety data sheets, SDS). Ezek elérhetők online, a www.qiagen.com/safety weboldalon jól kezelhető, kompakt PDF formátumban; a weboldalon megtalálható, megtekinthető és kinyomtatható az egyes QIAGEN kitek és kitben található komponensek biztonsági adatlapja.

VIGYÁZAT

Személyi sérülés kockázata



SOHA NE adjon fehérítőszeret vagy savat tartalmazó oldatot közvetlenül a minta-előkészítés hulladékához.

A Buffer ACL, a Buffer ACB és a Buffer ACW1 guanidinsókat tartalmaz, amelyek hipóval keverve rendkívül reakcióképes vegyületeket képeznek.

Ha egy ilyen puffereket tartalmazó folyadék kiömlik, takarítsa fel megfelelő laboratóriumi tisztítószerrel és vízzel. Ha potenciálisan fertőző ágenst tartalmazó folyadék ömlik ki, először tisztítsa meg az érintett felületet laboratóriumi tisztítószerrel és vízzel, majd 1%-os (v/v) nátrium-hipoklorittal.

A QIAamp DSP Circulating NA Kit komponenseire a következő figyelmeztető és óvintézkedésre vonatkozó mondatok érvényesek.

Buffer ACB



Guanidin-tiocianátot tartalmaz. Veszély! Lenyelve ártalmas. Bőrrel érintkezve vagy belélegzés esetén ártalmas lehet. Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. Savval érintkezve nagyon mérgező gázok képződnek. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező. HA SZEMBE KERÜL: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz.

Buffer ACL



Guanidin-tiocianátot tartalmaz. Veszély! Lenyelve ártalmas. Bőrrel érintkezve vagy belélegzés esetén ártalmas lehet. Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. Savval érintkezve nagyon mérgező gázok képződnek. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező. HA SZEMBE KERÜL: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz.

Buffer ACW1



Guanidin-hidrokloridot tartalmaz. Vigyázat! Lenyelve vagy belélegezve ártalmas. Bőrirritáló hatású. Súlyos szemirritációt okoz. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

Proteinase K



Tartalmazott anyag: Proteinase K. Vigyázat! Enyhe bőrirritációt okoz. Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat. Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzését. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező. Légzésvédelem használata kötelező. Expozíció vagy annak gyanúja esetén: Forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz. Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni.

A reagensek tárolása és kezelése

A QIAamp Mini oszlopokat száraz, 2–8 °C-os helyen kell tárolni. Az összes puffert szoba-hőmérsékleten (15–25 °C-on) kell tárolni. A QIAamp Mini oszlopok és pufferek e feltételek között a kit dobozán feltüntetett lejárat dátumig tárolhatók anélkül, hogy bármennyit csökkenne a teljesítményük.

A liofilizált hordozó RNS-t szoba-hőmérsékleten (15–25 °C-on) kell tárolni az összetevő címkéjén feltüntetett lejárat dátumig. A hordozó RNS-t Buffer AVE-ben kell feloldani; a feloldott hordozó RNS-t azonnal hozzá kell adni a Buffer ACL-hez a 28. oldalon (Breeze protokoll), illetve a 33. oldalon (Klasszikus protokoll) leírtak szerint. Ezt az oldatot frissen kell elkészíteni, és legfeljebb 48 órán át marad stabil 2–8 °C-on. A Buffer AVE-ben feloldással előkészített hordozó RNS fel nem használt maradványát alikvotokra osztva -30 és -15 °C közötti hőmérsékletre kell fagyasztani.

A QIAamp DSP Circulating NA Kit használatra kész Proteinase K oldatot tartalmaz, amelyet speciális tárolópufferben szállítunk. A Proteinase K szoba-hőmérsékleten (15–25 °C-on) tárolva a kit lejárat dátumáig megőrzi a stabilitását.

Mintatárolás és mintakezelés

A vér tárolása és kezelése

A sejtmentes nukleinsavak lebomlásának és a sejtes nukleinsavak kiszabadulásának elkerülése érdekében azt javasoljuk, legfeljebb 6 órán át tárolja a teljes vért 2–8 °C-on (pl. EDTA minták formájában). Ha stabilizált vérvételi csöveket használ, kérjük, vegye figyelembe a gyártó által meghatározott tárolási feltételeket. Azt javasoljuk, a saját specifikus downstream alkalmazásával és céljával kombinálva is validálja ezeket a tárolási feltételeket.

A vérplazma tárolása és kezelése

Ajánlott elvégezni a vérplazma szétválasztását, és a nukleinsav-izolálást közvetlenül a vérvételt követően, EDTA mint véralvadásgátló hozzáadásával, különösen RNS esetén. Rövid távú tárolásként a vérplazma eltárolható 2–8 °C-on, legfeljebb 24 órán át.

Hosszabb távú tároláshoz a stabilizált és nem stabilizált vérvételi csövekből származó vérplazma-alikvotok legalább 4 hétig tárolhatók -20 °C-on (csak DNS cél esetén), vagy -80 °C-on (DNS és RNS cél esetén).

Az eluált nukleinsavak tárolása

A megtisztított nukleinsavminták 1,5 ml-es elúciós csövekbe gyűlnek (a kithoz mellékelve). A tisztított cirkuláló nukleinsavak legfeljebb 24 órán át tárolhatók 2–8 °C-on. A 24 óránál hosszabb tárolási időtartam esetén azt javasoljuk, a DNS-t tárolja -30 és -15 °C közötti, az RNS-t pedig -90 és -60 °C közötti hőmérsékleten downstream alkalmazásokhoz való későbbi felhasználásra.

Eljárás

A kezdés előtt figyelembe veendő fontos szempontok

A QIAvac 24 Plus

A QIAvac 24 Plus legfeljebb 24 QIAGEN spin oszlop párhuzamos, egyidejű, gyors és hatékony vákuumos feldolgozására lett tervezve. A mintákat és mosóoldatokat centrifugálás helyett vákuum szívja keresztül az oszlopmembránokon, ami gyorsabb munkát biztosít, és csökkenti a kézi beavatkozás időtartamát a tisztítási eljárások során.

A QIAvac Connecting System rendszerrel kombinálva a QIAvac 24 Plus átfolyósos (flow-through) rendszerként is használható. A mintákon átfolyó folyadékot külön hulladékgyűjtő palackba gyűjtik.

A QIAvac 24 Plus rendszer karbantartásáért lásd a *QIAvac 24 Plus kézikönyv* kezelési irányelveit.

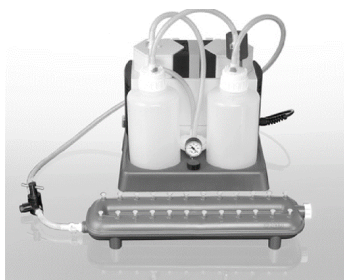
A QIAamp Mini oszlopok feldolgozása a QIAvac 24 Plus rendszeren

A QIAamp Mini oszlopokat a QIAvac 24 Plus rendszer dolgozza fel egyszer használatos VacConnector csatlakozók és újrafelhasználható VacValve szelepek segítségével. A VacValve szelepeket (opcionális) közvetlenül a QIAvac 24 Plus elosztócsövének luer csatlakozó nyílásaiba kell bedugni, és biztosítani kell az egyenletes áramlási rátát, ami elősegíti a különböző mintatérfogatok párhuzamos feldolgozását. A következetesen egységes vákuum biztosítása érdekében ezeket kell használni, ha a minták átfolyási rátái szignifikánsan különböznek. A VacConnector vákuumcsatlakozók eldobható csatlakozóelemek, amelyek pontosan illeszkednek a QIAamp Mini oszlopok és a VacValve vákuumcsatlakozók vagy a QIAamp Mini oszlopok és a QIAvac 24 Plus rendszer Luer-csatlakozónyílásai között. Megakadályozzák a spin oszlop és a VacValve vákuumszelep

közötti közvetlen kontaktust a tisztítási folyamat során, ezáltal megelőzik a minták közötti keresztszennyeződéseket. A VacConnector vákuumcsatlakozók egyszer használatosak, utána eldobandók. A felhasznált nagy oldatmennyiségek miatt a QIAvac Connecting System csatlakozórendszerre (vagy egy hasonló, hulladékgyűjtő palackokkal ellátott beállításra) van szükség (lásd 2. ábra).

A QIAvac 24 Plus rendszerre vonatkozó kezelési irányelvek

- Mindig helyezze a QIAvac 24 Plus készüléket egy stabil munkaasztalra vagy más munkafelületre. Ha elejti, a QIAvac 24 Plus elosztócsöve elrepedhet.
- A QIAvac 24 Plus készüléket mindig tisztán és szárazon tárolja. A tisztítási eljárásokért lásd a QIAvac 24 Plus felhasználói kézikönyvét.
- A QIAvac 24 Plus rendszer bizonyos alkatrészei nem ellenállóak bizonyos oldószerekkel szemben (1. táblázat). Ha ezen oldószerek valamelyike ráfolyna a készülékre, bő vízzel alaposan öblítse le.
- Az egyenletes teljesítmény biztosítása érdekében a QIAvac 24 Plus elosztócső semelyik részére se kenjen semmilyen szilikonos vagy vákuumos kenőcsöt.
- Ha nyomás alatt lévő vákuumos elosztócső közelében dolgozik, mindig óvatosan járjon el, és viseljen védőszemüveget.
- A tartalék vagy cserealkatrészeket illető információkért forduljon a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatához vagy területileg illetékes forgalmazójához.
- A vákuumnyomás a vákuumos elosztócső belseje és a külső légköri nyomás közötti nyomáskülönbség (a szabvány légköri nyomás 1013 millibar vagy 760 Hgmm), és a QIAvac Connecting System csatlakozórendszer segítségével megmérhető (lásd 2. ábra). A protokollokhoz egy -800 – -900 mbar értékű vákuum létrehozására képes vákuumszivattyú szükséges (pl. egy QIAGEN Vacuum Pump). Az ennél erősebb vákuumnyomások kerülendők. Az ajánlott értéknél alacsonyabb vákuumnyomások használata csökkentheti a nukleinsavhozamot és -tisztaságot, és növelheti a membránok eltömődésének kockázatát.



2. ábra: A QIAvac 24 Plus, a QIAvac Connecting System és a Vacuum Pump

1. táblázat: A QIAvac 24 Plus készülék vegyi ellenállási tulajdonságai

Ellenálló		Nem ellenálló
Ecetsav	Kaotróp sók	Benzol
Krómsav	Tömény alkoholok	Fenol
SDS	Nátrium-klorid	Kloroform
Tween® 20	Urea	Toluol
Hipó	Sósav	Éterek
Nátrium-hidroxid		

A QIAvac 24 Plus vacuum manifold beállítása

1. Csatlakoztassa a QIAvac 24 Plus készüléket egy vákuumforrásra. Ha a QIAvac Connecting System csatlakoztató rendszert használja, csatlakoztassa a rendszert az elosztócsőhöz és a vákuumforráshoz a *QIAvac 24 Plus kézikönyv* „A” függelékében leírtak szerint.
2. Helyezzen be egy VacValve vákuumszelepet (opcionális) a QIAvac 24 Plus készülék minden egyes használandó Luer-csatlakozónyílásába (lásd 3. ábra). Luer-dugókkal zárja be a nem használt Luer-csatlakozónyílásokat, vagy zárja el a behelyezett VacValve vákuumszelepet.

A következőket egységes vákuum biztosítása érdekében VacValve vákuumszelepeket kell használni, ha a minták átfolyási rátái szignifikánsan különböznek.

3. Dugjon be egy VacConnector vákuumcsatlakozót minden egyes VacValve vákuumszelepbe (lásd 3. ábra).

Ezt a lépést közvetlenül a tisztítás megkezdése előtt végezze el, hogy elkerülje a VacConnector vákuumcsatlakozóknak a levegő potenciális fertőző anyagaival való esetleges érintkezést.

4. Helyezze a QIAamp Mini oszlopokat az elosztócsövön lévő VacConnector vákuumcsatlakozókba (lásd 3. ábra).

Megjegyzés: Őrizze meg a buborékcsomagolásból kivett mosócsövet a tisztítási protokollhoz való használatra.

5. Helyezzen be egy oszloptoldalékot (20 ml) minden egyes QIAamp Mini oszlopba (lásd 3. ábra).

Megjegyzés: Ügyeljen rá, hogy az oszloptoldalék szilárdan legyen a QIAamp Mini oszlopba beillesztve, hogy elkerülje a minta szivárgását.

6. A nukleinsav-tisztításhoz kövesse a protokollokban leírt instrukciókat. Használat után megfelelő módon ártalmatlanítsa a VacConnector vákuumcsatlakozókat.

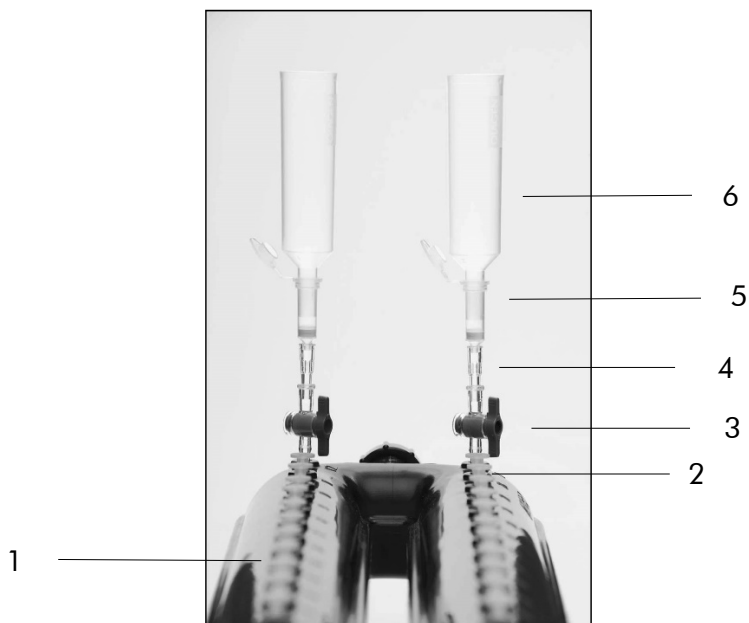
A vákuum alkalmazása közben hagyja nyitva a QIAamp Mini oszlopok fedelét.

A folyamat egyes lépései között kapcsolja le a vákuumot; ily módon biztosíthatja, hogy az alkalmazott vákuum állandó, egyenletes maradjon a feldolgozás során. Gyorsabb vákuumfeloldás érdekében Vacuum Regulator vákuumszabályzó használandó (a QIAvac Connecting System csatlakoztatórendszer része).

Megjegyzés: Minden egyes VacValve vákuumszelep egyedileg elzárható, amikor a minta teljesen átfolyt a spin oszlopon, ami lehetővé teszi a különböző térfogatú vagy viszkozitású minták párhuzamos feldolgozását.

7. A minták feldolgozása után tisztítsa meg a QIAvac 24 Plus készüléket (lásd „A QIAvac 24 Plus tisztítása és fertőtlenítése” című részt a *QIAvac 24 Plus kézikönyvben*).

Megjegyzés: A Buffer ACL, ACB és ACW1 nem kompatibilis a hipót tartalmazó fertőtlenítőszerrel. Figyelmeztetések és óvintézkedések, lásd 12. oldal.

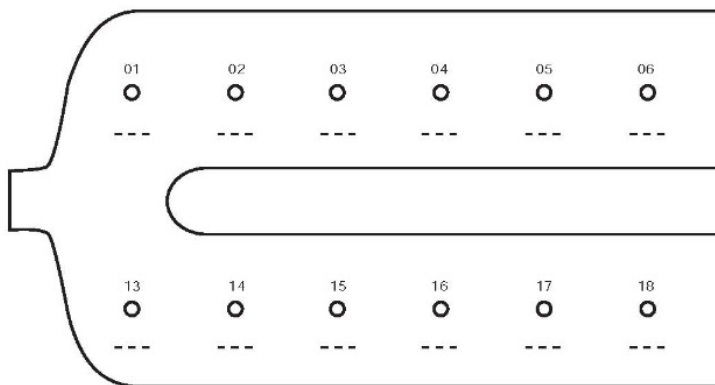


3. ábra: A QIAvac 24 Plus és a QIAamp Mini oszlopok összeszerelése VacValve vákuumszelepek, VacConnector vákuumcsatlakozók és Column Extender oszloptoldalékok segítségével.

- | | |
|--|--|
| 1 A QIAvac 24 Plus vacuum manifold vákuumelosztó cső | 4 VacConnector vákuumcsatlakozó |
| 2 A QIAvac 24 Plus Luer-csatlakozó nyílása (Luer-dugóval lezárva) | 5 QIAamp Mini oszlop |
| 3 VacValve vákuumszelep** | 6 Oszloptoldalék |

Azt javasoljuk, jelölje meg a tesztcsöveket és a QIAamp Mini oszlopokat a QIAvac 24 Plus vákuumos rendszeren való használathoz a 4. ábrán látható séma szerint, hogy elkerülje a minták összekeverését. Ez az ábra lefénymásolható, és felírhatók rá a minták nevei.

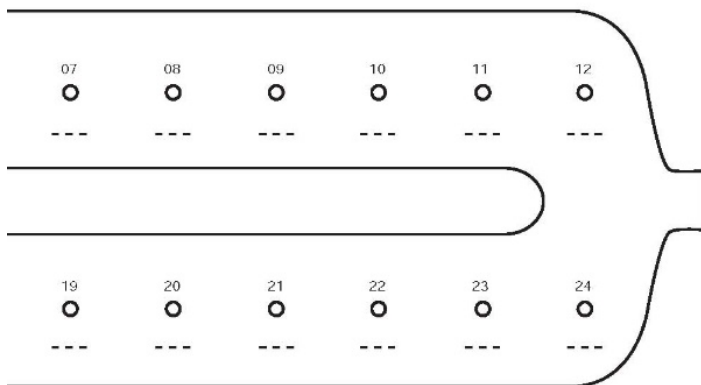
* Külön kell megvásárolni.



Dátum: _____

Kezelő: _____

Futtatási azonosító: _____



4. ábra: A tesztcsövek és QIAamp Mini oszlopok QIAvac 24 Plus vákuumos rendszeren való használatának feliratozási sémája

A pufferek és reagensek előkészítése

Buffer ACB

Használat előtt adjon 200 ml izopropanolt (100%-os) 300 ml Buffer ACB koncentrátumhoz, hogy 500 ml Buffer ACB-t kapjon. Az izopropanol hozzáadása után keverje össze alaposan.

Buffer ACW1*

Használat előtt adjon 25 ml etanolt (96–100%-os) 19 ml Buffer ACW1 koncentrátumhoz, hogy 44 ml Buffer ACW1-et kapjon. Az etanol hozzáadása után keverje össze alaposan.

Buffer ACW2†

Használat előtt adjon 30 ml etanolt (96–100%-os) 13 ml Buffer ACW2 koncentrátumhoz, hogy 43 ml Buffer ACW2-t kapjon. Az etanol hozzáadása után keverje össze alaposan.

Hordozó RNS hozzáadása a Buffer ACL-hez*

A hordozó RNS kettős célt szolgál: először is, fokozza a nukleinsavak kötődését a QIAamp Mini membránhoz, különösen akkor, ha a minta csak nagyon kevés célmolekulát tartalmaz. Másodszor, nagy mennyiségű hordozó RNS hozzáadása csökkenti az RNS lebomlás esélyét azon ritka esetben, ha RNáz enzim molekulák valamiképpen megmenekülnek a kaotróp sók és a Buffer ACL-ben lévő detergenssek általi degradációtól.

A liofilizált hordozó RNS mennyisége elegendő a kit részeként szállított Buffer ACL térfogatához. A hordozó RNS ajánlott koncentrációját úgy állították be, hogy a QIAamp DSP Circulating NA protokoll alkalmazható legyen számos amplifikációs rendszerrel kompatibilis, általános tisztítási rendszerként, és megfeleljen az RNS és DNS célmolekulák széles tartományának.

* Kaotróp sókat tartalmaz. A figyelmeztetések és óvintézkedések a 12-13. oldalon találhatóak.

† Tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaz.

A különböző amplifikációs rendszerek hatásfoka változó, a reakcióban részt vevő nukleinsavak teljes mennyiségétől függően. A kittel kapott eluátumok egyaránt tartalmaznak cirkuláló nukleinsavakat és hordozó RNS-t, és a hordozó RNS mennyisége az esetek többségében nagymértékben meghaladja a cirkuláló nukleinsavakét. Ezért az izolált cirkuláló nukleinsavak mennyiségének UV abszorbancia leolvasással történő meghatározása nem megfelelő, mivel az ilyen mérések eredményeit főként a hordozó RNS jelenléte határozza meg.

Az amplifikációs reakciók legmagasabb fokú érzékenységének elérése érdekében szükséges lehet a Buffer ACL-hez adott hordozó RNS mennyiségének csökkentése.

Az oligo dT primereket tartalmazó amplifikációs rendszerek esetében egyáltalán nem kell hordozó RNS-t adni a reakcióhoz a szabadon cirkuláló nukleinsavak izolálása során.

Adjon 1550 µl Buffer AVE-t* a 310 µg liofilizált hordozó RNS-t tartalmazó tesztcsőhöz, így 0,2 µg/µl koncentrációjú oldatot nyer. Alaposan oldja fel a hordozó RNS-t, majd adagolja szét megfelelő méretű alikvotokba, és tárolja -30 és -15 °C közötti hőmérsékleten. Ne fagyassza le és olvassa ki a hordozó RNS alikvotjait 3-nál több alkalommal.

Vegye figyelembe, hogy a hordozó RNS nem oldódik fel Buffer ACL-ben. Először Buffer AVE-ben kell feloldani, majd így hozzáadni a Buffer ACL-hez.

Számolja ki a Buffer ACL – hordozó RNS elegy egy adott mintasorozathoz szükséges térfogatát a protokollokban megadott táblázatok alapján. Válassza ki az egyidejűleg feldolgozandó minták számát.

Finoman keverje meg az elegyet a tesztcső vagy palack tízszeri forgatásával. A felhabzás elkerülése érdekében ne használjon vortexet a keveréshez.

*Tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaz.

Megjegyzés: A minta-előkészítési eljárás mintánként maximum 1,0 µg hordozó RNS mennyiségre lett optimalizálva. Ha kevesebb hordozó RNS használata jobbnak mutatkozik az adott amplifikációs rendszerben, csak a kívánt mennyiségű feloldott hordozó RNS-t adja hozzá a Buffer ACL-t tartalmazó tesztcsövekhez. Az előkészítéshez szükséges minden egyes mikrogramm hordozó RNS-enként adjon 5 µl feloldott hordozó RNS-t a Buffer ACL-hez. (A mintánként kevesebb mint 1,0 µg hordozó RNS használata előnyös lehet, de validálni kell minden egyes mintatípusra és downstream assay-re.)

Breeze protokoll: Cirkuláló nukleinsavak tisztítása 1–5 ml humán vérplazmából

Ez a protokoll a cirkuláló nukleinsavak tisztítására szolgál 1–5 ml humán vérplazmából, és rövid kézbeavatkozás-időre és teljes munkaciklusidőkre optimalizálták. A QIAamp DSP Circulating Kit, 1/R3-as verzió használata esetén a már létező, felhasználó által validált munkafolyamatokhoz kérjük, olvassa el a „Klasszikus protokoll: Cirkuláló nukleinsavak tisztítása 1–5 ml humán vérplazmából” fejezetet (32. oldal).

A kezdés előtt figyelembe veendő fontos szempontok

- Minden centrifugálási lépés szoba-hőmérsékleten (15–25 °C-on) végzendő.
- A folyamat egyes lépései között kapcsolja le a vákuumot; ily módon biztosíthatja, hogy az alkalmazott vákuum állandó, egyenletes maradjon a protokoll lépései során.
- **Megjegyzés:** A vákuumszivattyú nyomása -800 és -900 mbar közötti értékű legyen.
- Melegítse fel a mintákat szoba-hőmérsékletűre.
- Foszfát-pufferes sóoldattal egészítse ki a minta térfogatát a legközelebbi pontos, egész számú térfogati egységre (1–5 ml).
- Készítse elő a QIAvac 24 Plus készüléket a 19. oldalon leírtak szerint.
- A 3. lépésben melegítsen fel egy vízfürdőt vagy fűtőblokkot 56 °C-ra az 50 ml-es centrifugacsövekkel való használatra.
- Használat előtt legalább 1 órán át hagyja a QIAamp Mini spin oszlopokat szoba-hőmérsékletre melegedni.
- Ügyeljen rá, hogy a Buffer ACB, Buffer ACW1 és Buffer ACW2 előkészítését (izopropanol vagy etanol hozzáadása) a 24. oldalon található instrukciók szerint végezze.
- Adjon Buffer AVE-ben feloldott hordozó RNS-t a Buffer ACL-hez a következő instrukciók szerint: 2. táblázat.

2. táblázat: Az 1–5 ml humán vérplazmaminták feldolgozásához szükséges Buffer ACL és (Buffer AVE-ben feloldott hordozó RNS) térfogatok

A vérplazma mennyiségének (ml) beállítása	A	B	C	D	E	Hordozó RNS Buffer AVE-ben (µl)
	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml	
Mintaszám	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

Eljárás: Breeze protokoll

1. Pipetázzon QIAGEN Proteinase K-t, vérplazmát és Buffer ACL-t **ebben a sorrendben** egy 50 ml-es centrifugacsőbe (nem része a kitnek).

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

2. Zárja le a kupakot, és 5 x 2 másodpercig tartó pulzáló vortexeléssel keverje össze az elegyet.

Ügyeljen rá, hogy látható örvény képződjön a testcsőben. A hatékony lízis biztosítása érdekében elengedhetetlen, hogy a minta és Buffer ACL alaposan elkeveredjen, és homogén oldatot képezzen.

Megjegyzés: Ezen a ponton ne szakítsa félbe a procedúrát. Haladéktalanul folytassa a 3. lépéssel: kezdje el a lízist segítő inkubációt.

3. Inkubálja 56 °C-on (± 1 °C) 15 (± 1) percig.
4. Helyezze vissza a testcsövet a munkaasztalra, és csavarja le a kupakját.
5. Adja hozzá a Buffer ACB-t a testcsőben lévő lizátumhoz. Válassza ki a megfelelő térfogatot az 1. lépésben beállított érték szerint.

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

6. Zárja le a kupakot, és 5 x 2 másodpercig tartó pulzáló vortexeléssel alaposan keverje össze az elegyet.

Ügyeljen rá, hogy látható örvény képződjön a testcsőben. A hatékony lízis biztosítása érdekében elengedhetetlen, hogy a lizátum és a Buffer ACB alaposan elkeveredjen, és homogén oldatot képezzen.

7. Inkubálja a lizátum – Buffer ACB keveréket a tesztcsőben 5 (\pm 1) percg szoba-hőmérsékleten.
8. Helyezze a QIAamp Mini oszlopot a VacConnector vákuumcsatlakozóba a QIAvac 24 Plus készüléken (lásd „A QIAvac 24 Plus vacuum manifold beállítása”, 19. oldal). Helyezzen be egy 20 ml-es oszloptoldalékot a nyitott QIAamp Mini oszlopba. Ügyeljen rá, hogy az oszloptoldalék szilárdan legyen a QIAamp Mini oszlopba beillesztve, hogy elkerülje a minta szivárgását.
Megjegyzés: Őrizze meg a mosócsövet a 13. lépésben végzendő száraz centrifugáláshoz.
9. Óvatosan pipettázza bele a 7. lépésben kapott lizátumot a QIAamp Mini oszlop oszloptoldalékába. Kapcsolja be a vákuumszivattyút. Amikor az összes lizátum teljesen áthatolt az oszlopokon, kapcsolja ki a vákuumszivattyút, és oldja fel a nyomást 0 mbar értékre. Óvatosan távolítsa el és dobja ki az oszloptoldalékot.
Kérjük, vegye figyelembe, hogy a nagy lizátumtérfogatok (kb. 18 ml, ha 5 ml a kiindulási mintatérfogat) esetén akár 20 percre is szükség lehet, mire a vákuum ereje teljesen átszívja az elegyet a QIAamp Mini oszlop membránján.
A vákuumnyomás gyors és kényelmes feloldása érdekében használja a Vacuum Regulator vákuumszabályzót (a QIAvac Connecting System csatlakoztatórendszer része).
Megjegyzés: A keresztzennyeződések elkerülése érdekében ügyeljen rá, hogy ne szennyezze be a szomszédos QIAamp Mini oszlopokat az oszloptoldalék eltávolítása közben.
10. Pipetázzon 600 μ l Buffer ACW1-et a QIAamp Mini oszlopra. Hagyja nyitva az oszlop fedelét, és kapcsolja be a vákuumszivattyút. Miután összes Buffer ACW1 áthatolt a QIAamp Mini oszlopon, kapcsolja ki a vákuumszivattyút, és oldja fel a nyomást 0 mbar értékre.
11. Pipetázzon 750 μ l Buffer ACW2-t a QIAamp Mini oszlopra. Hagyja nyitva az oszlop fedelét, és kapcsolja be a vákuumszivattyút. Miután összes Buffer ACW2 áthatolt a QIAamp Mini oszlopon, kapcsolja ki a vákuumszivattyút, és oldja fel a nyomást 0 mbar értékre.

12. Pipetázzon 750 µl (96–100%-os) etanolt a QIAamp Mini oszlopra. Hagyja nyitva az oszlop fedelét, és kapcsolja be a vákuumszivattyút. Miután összes etanol áthatolt a spin oszlopon, kapcsolja ki a vákuumszivattyút, és oldja fel a nyomást 0 mbar értékre.
13. Zárja be a QIAamp Mini oszlop fedelét. Távolítsa el a vákuumos elosztócsőből, és ártalmatlanítsa a VacConnector vákuumos csatlakozót. Helyezze a QIAamp Mini oszlopot egy tiszta, 2 ml-es mosócsőbe (a 8. lépésből), és centrifugálja teljes sebességgel (20 000 x g; 14 000 rpm) 3 (±0,5) percig.
14. Helyezze a QIAamp Mini oszlopot egy új 2 ml-es mosócsőbe. Nyissa fel a fedelét, és inkubálja a szerelvényt szoba-hőmérsékleten 3 percig, hogy teljesen megszáradjon a membrán.

15. Helyezze a QIAamp Mini oszlopot egy tiszta, 1,5 ml-es elúciós csőbe (a kit tartalmazza), és dobja ki a 14. lépésből maradt 2 ml-es mosócsövet. Óvatosan pipetázzon 20–150 µl Buffer AVE-t a QIAamp Mini oszlop membránjának közepére. Zárja le a kupakkal az oszlopot, és inkubálja szoba-hőmérsékleten 3 (±0,5) percig.

Fontos: Ügyeljen rá, hogy a Buffer AVE eluáló puffer szoba-hőmérsékletű (15–25 °C-os) legyen. Ha az elúció kis térfogatokkal (<50 µl) zajlik, az eluáló puffert a membrán közepére kell adagolni, hogy teljesen kimosódhassanak a megkötött nukleinsavak.

Az elúciós térfogat rugalmasan változtatható, a tervezett downstream alkalmazások igényei szerint.

A kisebb térfogatú Buffer AVE-vel történő elúció koncentráltabb nukleinsav-eluátumokhoz vezet, azonban alacsonyabb teljes hozamot eredményezhet.

A visszanyert eluátum térfogata akár 5 µl-rel is kevesebb lehet a QIAamp Mini oszlop membránjára pipetázott eluátum térfogatánál.

Megjegyzés: Várhatóan alacsony nukleinsav-hozamok esetén ajánlott alacsony kötőerejű tesztcső (a kit nem tartalmazza) használata az elúcióhoz.

16. A nukleinsavak kivonásához centrifugáljon egy mikrocentrifugában teljes sebességgel (20 000 x g; 14 000 rpm) 1 percig.

Klasszikus protokoll: Cirkuláló nukleinsavak tisztítása 1–5 ml humán vérplazmából

Ez a protokoll a QIAamp DSP Circulating NA Kit kézikönyv 3. átdolgozásában (R3) található protokoll változatlan formáját alkotja, pl. a már létező, felhasználó által 1–5 ml humán vérplazmára kidolgozott munkafolyamatokhoz való használatra szolgál.

A kezdés előtt figyelembe veendő fontos szempontok

- Minden centrifugálási lépés szoba-hőmérsékleten (15–25 °C-on) végzendő.
- A folyamat egyes lépései között kapcsolja le a vákuumot; így módon biztosíthatja, hogy az alkalmazott vákuum állandó, egyenletes maradjon a protokoll lépései során.

Megjegyzés: A vákuumszivattyú nyomása -800 és -900 mbar közötti értékű legyen.

- Melegítse fel a mintákat szoba-hőmérsékletűre.
- Foszfát-pufferes sóoldattal egészítse ki a minta térfogatát a legközelebbi pontos, egész számú térfogati egységre (1–5 ml).
- Készítse elő a QIAvac 24 Plus készüléket a 19. oldalon leírtak szerint.
- A 3. lépésben melegítsen fel egy vízfürdőt vagy fűtőblokkot 60 °C-ra az 50 ml-es centrifugacsövekkel való használatra.
- A 14. lépésben melegítsen fel egy fűtőblokkot 56 °C-ra a 2 ml-es mosócsövekkel való használatra.
- Használat előtt legalább 1 órán át hagyja a QIAamp Mini spin oszlopokat szoba-hőmérsékletre melegedni.
- Ügyeljen rá, hogy a Buffer ACB, Buffer ACW1 és Buffer ACW2 előkészítését (izopropanol vagy etanol hozzáadása) a 24. oldalon található instrukciók szerint végezze.
- Adjon Buffer AVE-ben feloldott hordozó RNS-t a Buffer ACL-hez a következő instrukciók szerint: 3. táblázat.

3. táblázat: Az 1–5 ml humán vérplazmaminták feldolgozásához szükséges Buffer ACL és (Buffer AVE-ben feloldott hordozó RNS) térfogatok

A vérplazma mennyiségének (ml) beállítása	A	B	C	D	E	Hordozó RNS Buffer AVE-ben (µl)
	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml	
Mintaszám	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

Eljárás: Klasszikus protokoll

1. Pipetázzon QIAGEN Proteinase K-t, vérplazmát és Buffer ACL-t ebben a sorrendben egy 50 ml-es centrifugacsőbe (nem része a kitnek).

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

2. Zárja le a kupakot, és 30 másodpercig tartó pulzáló vortexeléssel keverje össze az elegyet.

Ügyeljen rá, hogy látható örvény képződjön a testcsőben. A hatékony lízis biztosítása érdekében elengedhetetlen, hogy a minta és Buffer ACL alaposan elkeveredjen, és homogén oldatot képezzen.

Megjegyzés: Ezen a ponton ne szakítsa félbe a procedúrát. Haladéktalanul folytassa a 3. lépéssel: kezdje el a lízist segítő inkubációt.

3. Inkubálja 60 °C-on (± 1 °C) 30 (± 2) percig.
4. Helyezze vissza a testcsövet a munkaasztalra, és csavarja le a kupakját.
5. Adja hozzá a Buffer ACB-t a testcsőben lévő lizátumhoz. Válassza ki a megfelelő térfogatot az 1. lépésben beállított érték szerint.

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

6. Zárja le a kupakot, és 30 másodpercig tartó pulzáló vortexeléssel alaposan keverje össze az elegyet.

Ügyeljen rá, hogy látható örvény képződjön a testcsőben. A hatékony lízis biztosítása érdekében elengedhetetlen, hogy a lizátum és a Buffer ACB alaposan elkeveredjen, és homogén oldatot képezzen.

7. Inkubálja a lizátum – Buffer ACB keveréket a tesztcsőben 5 (\pm 1) percgig jégen.
8. Helyezze a QIAamp Mini oszlopot a VacConnector vákuumcsatlakozóba a QIAvac 24 Plus készüléken (lásd „A QIAvac 24 Plus vacuum manifold beállítása”, 19. oldal). Helyezzen be egy 20 ml-es oszloptoldalékot a nyitott QIAamp Mini oszlopba. Ügyeljen rá, hogy az oszloptoldalék szilárdan legyen a QIAamp Mini oszlopba beillesztve, hogy elkerülje a minta szivárgását.

Megjegyzés: Őrizze meg a mosócsövet a 13. lépésben végzendő száraz centrifugáláshoz.

9. Óvatosan pipettázza bele a 7. lépésben kapott lizátumot a QIAamp Mini oszlop oszloptoldalékába. Kapcsolja be a vákuumszivattyút -800 és -900 mbar közötti nyomást alkalmazva. Amikor az összes lizátum teljesen áthatolt az oszlopokon, kapcsolja ki a vákuumszivattyút, és oldja fel a nyomást 0 mbar értékre. Óvatosan távolítsa el és dobja ki az oszloptoldalékot.

Kérjük, vegye figyelembe, hogy a nagy lizátumtérfogatok (kb. 18 ml, ha 5 ml a kiindulási mintatérfogat) esetén akár 20 percre is szükség lehet, mire a vákuum ereje teljesen átszívja az elegyet a QIAamp Mini oszlop membránján.

A vákuumnyomás gyors és kényelmes feloldása érdekében használja a Vacuum Regulator vákuumszabályzót (a QIAvac Connecting System csatlakoztatórendszer része).

Megjegyzés: A keresztzennyeződések elkerülése érdekében ügyeljen rá, hogy ne szennyezze be a szomszédos QIAamp Mini oszlopokat az oszloptoldalékok eltávolítása közben.

10. Pipetázzon 600 μ l Buffer ACW1-et a QIAamp Mini oszlopra. Hagyja nyitva az oszlop fedelét, és kapcsolja be a vákuumszivattyút. Miután összes Buffer ACW1 áthatolt a QIAamp Mini oszlopon, kapcsolja ki a vákuumszivattyút, és oldja fel a nyomást 0 mbar értékre.
11. Pipetázzon 750 μ l Buffer ACW2-t a QIAamp Mini oszlopra. Hagyja nyitva az oszlop fedelét, és kapcsolja be a vákuumszivattyút. Miután összes Buffer ACW2 áthatolt a QIAamp Mini oszlopon, kapcsolja ki a vákuumszivattyút, és oldja fel a nyomást 0 mbar értékre.

12. Pipetázzon 750 µl (96–100%-os) etanolt a QIAamp Mini oszlopra. Hagyja nyitva az oszlop fedelét, és kapcsolja be a vákuumszivattyút. Miután összes etanol áthatolt a spin oszlopon, kapcsolja ki a vákuumszivattyút, és oldja fel a nyomást 0 mbar értékre.
13. Zárja be a QIAamp Mini oszlop fedelét. Távolítsa el a vákuumos elosztócsőből, és ártalmatlanítsa a VacConnector vákuumos csatlakozót. Helyezze a QIAamp Mini oszlopot egy tiszta, 2 ml-es mosócsőbe (a 8. lépésből), és centrifugálja teljes sebességgel (20 000 x g; 14 000 rpm) 3 (±0,5) percig.
14. Helyezze a QIAamp Mini oszlopot egy új 2 ml-es mosócsőbe. Nyissa fel a fedelét, és inkubálja a szerelvényt 56 °C-on (±1 °C) 10 (±1) percig, hogy teljesen megszáradjon a membrán.

15. Helyezze a QIAamp Mini oszlopot egy tiszta, 1,5 ml-es elúciós csőbe (a kit tartalmazza), és dobja ki a 13. lépésből maradt 2 ml-es mosócsövet. Óvatosan pipetázzon 20–150 µl Buffer AVE-t a QIAamp Mini oszlop membránjának közepére. Zárja le a kupakkal az oszlopot, és inkubálja szoba-hőmérsékleten 3 (±0,5) percig.

Fontos: Ügyeljen rá, hogy a Buffer AVE eluáló puffer szoba-hőmérsékletű (15–25 °C-os) legyen. Ha az elúció kis térfogatokkal (<50 µl) zajlik, az eluáló puffert a membrán közepére kell adagolni, hogy teljesen kimosódhassanak a megkötött nukleinsavak.

Az elúciós térfogat rugalmasan változtatható, a tervezett downstream alkalmazások igényei szerint.

A kisebb térfogatú Buffer AVE-vel történő elúció koncentráltabb nukleinsav-eluátumokhoz vezet, azonban alacsonyabb teljes hozamot eredményezhet.

A visszanyert eluátum térfogata akár 5 µl-rel is kevesebb lehet a QIAamp Mini oszlopra pipetázott eluátum térfogatánál.

Megjegyzés: Várhatóan alacsony nukleinsav-hozamok esetén ajánlott alacsony kötőerejű tesztcső (a kit nem tartalmazza) használata az elúcióhoz.

16. A nukleinsavak kivonásához centrifugáljon egy mikrocentrifugában teljes sebességgel (20 000 x g; 14 000 rpm) 1 percig.

Minőség-ellenőrzés

A QIAGEN ISO-minősített minőségirányítási rendszerének megfelelően a QIAamp DSP Circulating NA Kitek minden egyes gyártási tétele esetében ellenőrizzük az előre meghatározott specifikációknak való megfelelést, ezzel biztosítva a termék egyenletes és kifogástalan minőségét.

Korlátozások

A cirkuláló, sejtmentes nukleinsavak izolálására szolgáló rendszer teljesítményét az alábbi vérvételi csövekből létrehozott humán vérplazmaminták használatával állapították meg:











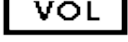


- K2-EDTA (Beckton Dickinson, katalógusszám: 367525)
- PAXgene Blood ccfDNA Tube (PreAnlytiX, katalógusszám: 768115)
- Cell-Free DNA BCT (Streck, katalógusszám: 218962)

A felhasználó felelőssége, hogy validálja a rendszer teljesítményét a laboratóriumában alkalmazott bármely olyan eljárásra, amely nem része a QIAGEN teljesítmény-értékelő vizsgálatoknak.

A diagnosztikai eredményeket negatívan befolyásoló hatások kockázatának minimumra csökkentése érdekében a downstream alkalmazásokhoz megfelelő kontrollokat kell használni. További validáláshoz javasoljuk az Műszaki Követelmények Nemzetközi Harmonizációs Konferenciája (International Conference on Harmonization of Technical Requirements, ICH) által az ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology (Analitikai eljárások validálása: kísérlet és módszertan) szerinti irányelveket.

A kapott diagnosztikai eredményeket mindig az egyéb klinikai vagy laboratóriumi leletekkel való összefüggésben kell értelmezni.

Szimbólumok

Szimbólum	Szimbólum definíciója
 <N>	<N> teszthez elegendő reagenst tartalmaz
	Lejárat dátum
	In vitro diagnosztikai alkalmazásra szolgáló orvostechnikai eszköz
	Az áru beérkezését követően
	Kézbeművéskor nyissa ki; a QIAamp Mini spin oszlopokat tárolja 2–8 °C-on
	Katalógusszám
	Szám
	Sarzsorszám
	Anyagszám
	Komponensek
	Térfogat
	Hozzáadva
	Hőmérséklet-korlátozás



Gyártó



Lásd a használati útmutatót



Az etanol palackba töltése után írja rá az aktuális dátumot



Etanol



Az izopropanol palackba töltése után írja rá az aktuális dátumot



Izopropanol



Tartalom



Elvezet ide



Guanidin-tiocianát



Guanidin-hidroklorid



BRIJ 58



Globális kereskedelmi áruazonosító szám (Global Trade Item Number, GTIN)

Irodalomjegyzék

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.

Kapcsolatfelvételi adatok

Műszaki segítségnyújtásért és további információkért tekintse meg műszaki támogatásunk weblapját a **support.qiagen.com** címen, hívja a QIAGEN valamelyik műszaki szervizosztályát, vagy forduljon a területileg illetékes forgalmazóhoz (lásd a hátsó borítón vagy a www.qiagen.com webhelyen).

Hibaelhárítási útmutató

Ez a hibaelhárítási útmutató bármely felmerülő hiba esetén segíthet a megoldásban. Kapcsolattartási információkért tekintse meg a hátsó fedőlapot, vagy látogasson el a www.qiagen.com webhelyre.

Megjegyzések és javaslatok

Az eluátumban kevés vagy nincs nukleinsav

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Nem stabilizált vérplazma használata | A nem stabilizált vérplazmaminták a DNS gyorsabb lebomlásához vezethetnek. Javasoljuk, hogy kövesse a CEN/TS 16835-3:2015 számú szabványt. Ismételje meg a tisztítási eljárást új mintákkal. |
| b) | A vérvétel és a plazma-előkészítés időpontja között túl sok idő telt el | A sejtmaggal rendelkező vérszövetek széteshetnek, és genomi DNS-t juttathatnak a vérplazmába, felhígítva ezzel a célnukleinsavat. |
| c) | A minták egynél többször lettek lefagyasztva és felolvasztva | Az ismételt fagyasztás és felolvasztás kerülendő, mivel az a DNS lebomlásához vezethet. Mindig friss, vagy legfeljebb egyszer felolvasztott mintákat használjon. |
| d) | A cél-DNS alacsony koncentrációja a mintákban | A vérplazmamintákat túl sokáig hagyták szoba-hőmérsékleten állni. Ismételje meg a tisztítási eljárást új mintákkal
Megjegyzés: egyes személyek vérplazmájában lehet, hogy alacsony a sejtmentes nukleinsav koncentrációja; ilyenkor megnövelt mintatérfogatot és kis eluátum-térfogatot érdemes választani. |
| e) | Elégtelen hatásfokú mintalízis a Buffer ACL-ben | Ha a QIAGEN Proteinase K enzimet hosszabb ideig magas hőmérsékletnek teszi ki, az veszíthet az aktivitásából. Ismételje meg az eljárást új minták és friss QIAGEN Proteinase K használatával. |
| f) | A Buffer ACL – hordozó RNS elegy nem keveredett össze eléggé | Finoman keverje össze az elegyet a Buffer ACL-t és hordozó RNS-t tartalmazó tesztcső legalább 10-szeres átforgatásával. |
| g) | Alacsony százaléku etanol használata a 96–100%-os töménységű helyett | Ismételje meg a tisztítási eljárást új mintákkal, és 96–100%-os etanollal. Ne használjon denaturált alkoholt; a denaturált alkohol más anyagokat, például metanolt vagy metil-etil-ketont is tartalmaz. |
| h) | A Buffer ACB-t nem megfelelően készítették el | Ellenőrizze, hogy a Buffer ACB-koncentrátumot a megfelelő térfogatú izopropanollal oldották-e fel (és nem etanollal, lásd 24. oldal). |
| i) | A Buffer ACW1-et vagy Buffer ACW2-t nem megfelelően készítették el | Ellenőrizze, hogy a Buffer ACW1- és a Buffer ACW2-koncentrátumokat a helyes mennyiségű etanollal hígították-e fel (lásd 24. oldal). Ismételje meg a tisztítási eljárást új mintákkal. |
| j) | A Buffer ACW1-et vagy Buffer ACW2-t 70%-os etanollal készítették el | Ellenőrizze, hogy a Buffer ACW1- és Buffer ACW2-koncentrátumokat 96–100%-os töménységű etanollal hígították-e fel (lásd 24. oldal). Ismételje meg a tisztítási eljárást új mintákkal. |

Megjegyzések és javaslatok

A kapott DNS vagy RNS nem jól teljesít a downstream enzimreakciókban

- a) Az eluátumban kevés vagy nincs DNS A lehetséges okokért lásd fentebb „Az eluátumban kevés vagy nincs nukleinsav” című szakaszt. Ha lehetséges, növelje a reakcióhoz adott eluátum mennyiségét.
- b) Nem megfelelő elúciós térfogatot használt Határozza meg a downstream alkalmazása számára megfelelő eluátum maximális térfogatát. Ennek megfelelően csökkentse vagy növelje a downstream alkalmazáshoz adott eluátum térfogatát. Az elúciós térfogat arányosan módosítható.
Megjegyzés: A kisebb térfogatú Buffer AVE-vel történő elúció koncentráltabb nukleinsav-eluátumokhoz vezet, azonban alacsonyabb teljes hozamot eredményezhet.
- c) A pufferek nem keveredtek össze elég alaposan Lehet, hogy a Buffer ACW2 mosópuffer só- és etanol-összetevői szétváltak, miután túl sokáig hagyta állni a futtatások között. Mindig alaposan keverje össze a puffereket minden egyes futtatás előtt.
- d) A hordozó RNS miatti interferencia Ha az eluátumban jelenlévő hordozó RNS bezavar a downstream enzimreakcióba, szükséges lehet csökkenteni a hordozó RNS mennyiségét, vagy teljesen kihagyni az elegyből.

Általános kezelés

- a) Eltömődött QIAamp Mini oszlop Ha az átfolyási ráta csökken, a vákuumszívás ideje megnőhet.
Alternatív megoldásként zárja el a VacValve vákuumszelepet, ha használta, és óvatosan távolítsa el az oszloptoldalék–VacConnector–VacValve szerelvényt a QIAamp Mini oszlopról anélkül, hogy a lizátumból bármennyit elveszítene az oszloptoldalékban.
Távolítsa el a QIAamp Mini oszlopot a vákuumos elosztócsőből, helyezze egy 2 ml-es mosócsőbe, és centrifugálja teljes sebességgel, amíg a minta teljesen át nem hatol a membránon. Helyezze vissza a maradék lizátumot tartalmazó oszloptoldalék–VacConnector–VacValve szerelvényt. Kapcsolja be a vákuumszivattyút, nyissa ki a VacValve vákuumszelepet, és folytassa a maradék lizátum betöltését.
Ha a QIAamp Mini oszlop továbbra is el van dugulva, ismételje meg a fenti eljárást.
A vérplazmában fagyási csapadékok (krioprecipitátumok) keletkezhetnek az ismételt lefagyasztás és felolvasztás miatt. Ezek eltávolíthatók a QIAamp Mini oszlopot. Ne használjon egynél többször lefagyasztott és felolvasztott vérplazmát.
Amennyiben szemmel láthatóak a krioprecipitátumok, tisztítsa meg a mintát: centrifugálja 5 percig 16 000 x g sebességgel.
- b) Változó elúciós térfogatok A különböző minták befolyásolhatják a végső eluátum térfogatát. A visszanyert eluátum térfogata akár 5 µl-rel is kevesebb lehet a QIAamp Mini oszlopra pipettázott eluátum térfogatánál.

Megjegyzések és javaslatok

- c) Nem sikerült elérni a -800 és -900 mbar közötti vákuumnyomást
- A vákuumos elosztócső nem záródik szorosan. Nyomja le a vákuumos elosztócső fedelét a vákuum bekapcsolása után. Ellenőrizze, hogy sikerült-e elérni a vákuumnyomást.
- A QIAvac fedél tömítőgyűrűje elhasználódott. Ellenőrizze szabad szemmel, és szükség esetén cserélje ki az elosztócső tömítését.
- A VacValve vákuumszelepek elhasználódtak. Távolítsa el az összes VacValve vákuumszelepet, és közvetlenül a Luer-toldalékba helyezze be a VacConnector vákuumcsatlakozókat. Helyezzen be QIAamp Mini oszlopokat a VacConnector vákuumcsatlakozókba, zárja le az oszlopok fedelét, és kapcsolja be a vákuumot. Ellenőrizze, hogy sikerült-e elérni a vákuumnyomást. Szükség esetén cserélje ki a VacValve vákuumszelepeket.
- A vákuumszivattyú csatlakozása szivárog. Dugasolja el az összes Luer-toldalékot Luer-dugókkal, és kapcsolja be a vákuumszivattyút. Ellenőrizze, hogy stabil-e a vákuumnyomás a vákuumszivattyú bekapcsolása után (ha zárva van a Vacuum Regulator szabályozószellepe). Szükség esetén cserélje ki a szivattyú és a vákuumos elosztócső közötti csatlakozóelemeket.
- Ha még így sem sikerült elérni a vákuumnyomást, cserélje ki a vákuumszivattyút egy erősebbre.

„A” függelék: Javaslat a vérplazma szétválasztására és tárolására

A vérvételi csövek (pl. PAXgene ccfDNA Tube vagy Streck Cell-Free DNA Tube) stabilizálásáért kérjük, kövesse a gyártó vérplazma szétválasztására és tárolására vonatkozó instrukcióit. Azt javasoljuk, a saját specifikus downstream alkalmazásával és céljával kombinálva is validálja ezeket a tárolási feltételeket.

Nem stabilizált vérvételi csövek (BCT) esetén javasoljuk, hogy kövesse a CEN/TS 16835-3:2015 számú szabványt.

Javasoljuk, hogy a cirkuláló, sejtmertes nukleinsavak vérmintákból való izolálásához kövesse ezt a protokollt, amelynek része egy nagy g-erejű centrifugálási lépés a sejtörmelék eltávolítása érdekében; ezáltal csökkenthető a sejtes vagy genomi DNS és RNS a mintában.

1. Helyezze az EDTA-val kezelt teljes vért tartalmazó BD Vacutainer® tesztcsöveket (vagy egyéb primer vérvételi csöveket, amelyek véralvadástgátlóként EDTA-t tartalmaznak) egy 4 °C-ra lehűtött, lengőrotoros és megfelelő méretű mintakosarakkal felszerelt centrifugába.
2. Centrifugálja a vérmintákat 10 percig 1900 x g (3000 rpm) sebességgel 4 °C-on.
3. Óvatosan szívja fel a vérplazma felülúszóját anélkül, hogy közben felkavarná a plazmasejtes réteg felületét. Egy 10 ml-es primer vérvételi mintacsőből körülbelül 4-5 ml vérplazma nyerhető.

Megjegyzés: A vérplazma ebben a stádiumban már felhasználható a cirkuláló nukleinsavak kinyerésére. Az alábbi nagy sebességű centrifugálás azonban eltávolítja a sejtmaggal rendelkező sérült vérsejtekből származó további sejtörmeléket, és a cirkuláló nukleinsavakat szennyező, genomi DNS és RNS darabokat.

4. A felszívott vérplazmát pipettázza át egy új, tiszta centrifugacsőbe.

5. Centrifugálja a vérplazmamintákat 10 percig 16 000 x g sebességgel (rögzített szögű rotorban), 4 °C-on.

Ez eltávolítja a sejttörmelékhez kapcsolódó további sejt eredetű nukleinsavakat.

6. Óvatosan távolítsa el a felülúszót, és vigye át egy új mintacsőbe anélkül, hogy felkavarná a pelletet.

7. Ha a vérplazmát még ugyanazon a napon használja nukleinsavkinyerésre, a további feldolgozásig tárolja 2–8 °C-on. Hosszabb távú tároláshoz a stabilizált és nem stabilizált vérvételi csövekből származó vérplazmaalíkvotok legalább 4 hétig tárolhatók -20 °C-on (DNS cél esetén), vagy -80 °C-on (DNS és RNS cél esetén). Mielőtt cirkuláló nukleinsav kinyerésére használná a vérplazmát, hagyja szoba-hőmérsékleten kiolvadni a fagyott vérplazmát tartalmazó tesztcsöveket.

8. **Opcionális:** A krioprecipitátumok eltávolítása érdekében centrifugálja a vérplazmamintákat 5 percig 16 000 x g sebességgel (rögzített szögű rotorban).

Opcionális: Pipettázza át a felülúszót egy új tesztcsőbe, majd kezdje a cirkulálónukleinsav-kinyerési protokollal.

„B” függelék: Általános megjegyzések az RNS kezeléséről

Az RNS kezelése

A ribonukleázok (RNázok) nagyon stabil és aktív enzimek, amelyekhez általában nincsen szükség kofaktorokra. Mivel az RNázokat nehéz inaktíválni, és még parányi mennyiségben is képesek lebontani az RNS-t, soha ne használja úgy a műanyag vagy üvegeszközöket, hogy előtte nem távolította el róluk a lehetséges RNáz-szennyeződések. Nagy gondossággal kell eljárni, nehogy véletlenül RNáz-t vigyen be egy RNS mintába a tisztítási eljárás alatt vagy után. Az RNáz-mentes környezet létrehozása és fenntartása érdekében az alábbi óvintézkedések szükségesek az eldobható és többször használható edények és oldatok előkezelése és használata során, amikor RNS-sel dolgozik.

Általános kezelés

Mindig megfelelő aszeptikus mikrobiológiai technikát kell alkalmazni az RNS-sel való munkálatok során. A kéz és a porreszecskek baktériumokat és penészgombákat hordozhatnak, és ezek az RNáz-szennyeződés legáltalánosabb forrásai. A bőrfelületről vagy a poros laboratóriumi eszközökről származó RNáz-szennyeződések átvitelének megakadályozása céljából a reagensek és RNS-minták kezelésekor mindig viseljen latex- vagy vinilkesztyűt. Gyakran váltson kesztyűt, és amikor csak lehetséges, tartsa lezárva a csöveket. Tartsa jégen a tisztított RNS-t, amikor alikvotokat pipettáz downstream alkalmazások számára.

Egyszer használatos műanyag termékek

Javasoljuk, hogy a teljes eljárás során használjon steril, RNáz-mentes, eldobható polipropilén tesztcsöveket.

Rendelési információk

Termék	Tartalom	Katalógusszám
QIAamp DSP Circulating NA Kit (50)	50 preparáláshoz: QIAamp Mini oszlopok, oszloptoldalékok, VacConnector vákuumcsatlakozók, QIAGEN Proteinase K, reagensek, pufferek és mintagyűjtő csövek	61504
Tartozékok		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold*	Vákuumos elosztócső 1–24 db spin oszlop feldolgozásához: QIAvac 24 Plus vacuum manifold elosztócső, Luer-dugók és gyorscsatlakozók	19413
Vacuum Pump*	Univerzális vákuumszivattyú	84010 [USA és Kanada] 84000 [Japán] 84020 [a világ többi része]
QIAvac Connecting System*	A vákuumos elosztócsövet és vákuumszivattyút csatlakoztató rendszer tartalma: tálca, hulladékgyűjtő palackok, csövek, csatlakozók, szelep, sablon és 24 db VacValve vákuumszelep	19419

* Vákuumos protokollokkal való használatra.

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN kit kézikönyvében, vagy felhasználói kézikönyvében található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói kézikönyvei a **www.qiagen.com** webhelyen érhetők el, illetve a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálattól vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

A kézikönyv átdolgozási előzményei

Dátum	Módosítások
R4 2019. 09.	A rendeltetésszerű használat megváltoztatása csak humán vérplazmáról sejtmentes nukleinsavakra. A „Breeze” protokoll leírásának beillesztése. Nincs beillesztve protokoll vizeletre és miRNS-re. A biztonsági információk frissítése.

Korlátozott licencszerződés a QIAamp DSP Circulating NA Kithoz

A termék használatával a termék vásárlója vagy felhasználója elfogadja a következő feltételeket:

1. A terméket kizárólag a hozzá tartozó protokollok és a jelen kézikönyv szerint, valamint a kithoz tartozó komponensekkel együtt szabad használni. A QIAGEN a szellemi tulajdonát képező termékek egyikének esetében sem engedélyezi, hogy a kithoz tartozó komponenseket a termékhez mellékelt protokollokban, a jelen kézikönyvben és a www.qiagen.com webhelyen elérhető további protokollokban leírtak kivételével más, nem a kithoz tartozó komponensekbe beépítsék, vagy azokkal együtt használják. A további protokollok némelyikét a QIAGEN felhasználói bocsátják más QIAGEN felhasználók rendelkezésére. A QIAGEN nem végezte el ezeknek a protokolloknak az alapos vizsgálatát és optimalizálását. A QIAGEN nem vállal garanciát ezekért a protokollokért, és nem garantálja azt sem, hogy azok nem sértik harmadik felek jogait.
2. Az itt leírt licenccen kívül a QIAGEN nem vállal garanciát arra, hogy ez a kit és/vagy ennek használata nem sérti harmadik felek jogait.
3. A kit és komponenseinek licence csak egyszeri használatra jogosít; újrafelhasználásuk, felújításuk vagy újraértékesítésük tilos.
4. A QIAGEN az itt leírtakon kívül kifejezetten kizár minden más konkrét vagy vélelmezett jogot.
5. A kit vásárlója és felhasználója elfogadja, hogy semmilyen olyan lépést nem tesz, és másnak sem engedélyezi semmilyen olyan lépés megtételét, amely a fentiekben előírtak megszegéséhez vezet vagy azt elősegíti. A QIAGEN jogosult a jelen korlátozott licencszerződésben foglalt tilalmak bármely bíróságon kereszttül érvényesítésére és az azzal kapcsolatban felmerülő összes vizsgálati és perköltség követelésére, beleértve a korlátozott licencre vonatkozó jelen szerződés vagy a kittel és/vagy komponenseivel kapcsolatos bármilyen szellemi tulajdonjog érvényesítése céljából indított peres eljárás ügyvédi költségeit.

A legújabb licencfeltételekről a www.qiagen.com oldalon tájékozódhat.

Védjegyek: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp® (QIAGEN csoport); BD Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); Tween® (ICI Americas Inc.). A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvényi védelem kivételének, ha nem rendelkeznek külön jelöléssel.

1118364 10/2019 HB-0466-005 © 2019 QIAGEN, minden jog fenntartva.

