

MACHEREY-NAGEL

Uživatelská příručka



Izolace virových nukleových kyselin

■ NucleoSpin® Dx Virus



Diagnostický zdravotnický prostředek
in vitro



740895.50



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciener Str. 11 · 52355 Düren · Německo



50 dávek



Duben 2022 / Rev. 07

Contact MN

Germany and international

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciennener Str. 11 · 52355 Düren · Germany
Tel.: +49 24 21 969-0
Toll-free: 0800 26 16 000 (Germany only)
E-mail: info@mn-net.com

Technical Support Bioanalysis

Tel.: +49 24 21 969-333
E-mail: support@mn-net.com

USA

MACHEREY-NAGEL Inc.
924 Marcon Blvd. · Suite 102 · Allentown PA, 18109 · USA
Toll-free: 888 321 6224 (MACH)
E-mail: sales-us@mn-net.com

France

MACHEREY-NAGEL SAS
1, rue Gutenberg – BP135 · 67720 Hoerdt Cedex · France
Tel.: +33 388 68 22 68
E-mail: sales-fr@mn-net.com

MACHEREY-NAGEL SAS (Société par Actions Simplifiée) au capital de 186600 €
Siret 379 859 531 00020 · RCS Strasbourg B379859531 · N° intracommunautaire FR04 379 859 531

Switzerland



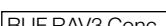




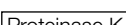


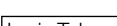


MACHEREY-NAGEL AG
Hirsackerstr. 7 · 4702 Oensingen · Switzerland
Tel.: +41 62 388 55 00
E-mail: sales-ch@mn-net.com

Obsah

1	Součásti	4
1.1	Obsah sady	4
1.2	Reagencie, spotřební látky a vybavení, které si musí uživatel zajistit	5
1.3	O této uživatelské příručce	6
2	Popis produktu	7
2.1	Zamýšlené použití	7
2.2	Omezení použití produktu	7
2.3	Kontrola kvality	8
2.4	Úvod a specifikace sady	8
2.5	Analytická a klinická funkce	10
2.6	Poznámky týkající se kvality a přípravy vzorků	12
2.7	Poznámky týkající se eluce	12
3	Podmínky skladování a příprava pracovních roztoků	13
4	Bezpečnostní pokyny	14
4.1	Likvidace	14
5	Purifikace virových nukleových kyselin pomocí sady NucleoSpin® Dx Virus	15
5.1	Přehled protokolu	16
5.2	Postup izolace virové RNA	19
5.3	Postup izolace virové DNA	21
5.4	Postup současné izolace virové RNA a DNA	23
6	Dodatek	25
6.1	Řešení problémů	25
6.2	Povinné hlášení	26
6.3	Přehled literatury	26
6.4	Informace pro objednávky	26
6.5	Vysvětlivky symbolů	27
6.6	Omezení použitelnosti produktu / záruka	27

1 Součásti

1.1 Obsah sady

NucleoSpin® Dx Virus		
REFERENCE	Symbol	50 dávek 740895.50
Lytický pufr Lysis Buffer RAV1		35 mL
Promývací pufr Wash Buffer RAW		30 mL
Koncentrát promývacího pufru Wash Buffer RAV3 (Concentrate)*		12 mL
H ₂ O bez obsahu RNáz RNase-free H ₂ O		13 mL
Eluční pufr Elution Buffer RE**		13 mL
Nosič Carrier RNA (lyofilizovaný)*		1 mg
Pufr proteinázy Proteinase Buffer PB		1,8 mL
Proteináza Proteinase K (lyofilizovaná)*		30 mg
Kolony NucleoSpin® Dx Virus Column (tmavě modré kroužky plus odběrové zkumavky Collection Tube)		50
Odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL)		4 × 50
Lyzační zkumavky Lysis Tube (1,5 mL)		50
Eluční zkumavky Elution Tube (1,5 mL)		50
Uživatelská příručka		1

* Přípravu pracovních roztoků a podmínky jejich skladování uvádí část 3.

** Složení elučního pufru Elution Buffer RE: 5 mM Tris-HCl, pH 8,5

1.2 Reagencie, spotřební látky a vybavení, které si musí uživatel zajistit

Reagencie:

- 96 – 100 % etanol (k úpravě podmínek vazby nukleových kyselin a k přípravě promývacího pufru Wash Buffer RAV3).

Spotřební látky:

- jednorázové pipetovací hroty (za účelem prevence zkřížené kontaminace jsou doporučeny pipetovací hroty s aerosolovou bariérou).

Vybavení:

- manuální pipetovače,
- odstředivka pro mikrocentrifugační zkumavky,
- vířivý mixér,
- ohřívací blok nebo vodní lázeň pro inkubaci při teplotě 70 °C,
- osobní ochranné prostředky (např. laboratorní plášť, rukavice, brýle).

1.3 O této uživatelské příručce

Je důrazně doporučeno si v této uživatelské příručce přečíst podrobnou protokolární část. Protokol do kapsy slouží pouze jako doplněk pro rychlou nápovědu při provádění postupu purifikace.

Uživatelské příručky společnosti MACHEREY-NAGEL jsou k dispozici na internetu na adrese **www.mn-net.com**.

Chcete-li získat informace o změnách v aktuální uživatelské příručce oproti předchozím nebo aktualizovaným verzím, kontaktujte technický servis.

Kontaktní údaje

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciennner Str. 11
52355 Duren
Německo
Tel.: +49 24 21 969-0
Nezpoplatněný: 0800 26 16 000 (platí pouze pro Německo)
E-mail: info@mn-net.com

Technická podpora pro bioanalýzu

Tel.: +49 24 21 969-270
E-mail: tech-bio@mn-net.com

Benutzerhandbuecher in weiteren Sprachen sind im Download-Bereich auf der Produktseite verfügbare.

Les manuels d'utilisation dans d'autres langues sont disponibles dans la section Telechargements de la page du produit.

Los manuales de usuario en otros idiomas estan disponibles en la seccion de descargas de a pagina del producto.



2 Popis produktu

2.1 Zamýšlené použití

Sada **NucleoSpin® Dx Virus** je sada k izolaci virových nukleových kyselin z čerstvého i mraženého lidského séra a plazmy stabilizovaných EDTA nebo citrátem získaných z běžných systémů pro odběr krve pro následnou analýzu *in vitro*. Poskytuje purifikované virové nukleové kyseliny, které lze použít k následné analýze za účelem získání informací o infekcích způsobených virem, jako je např. (RT)-PCR, qPCR, qRT-PCR nebo sekvenace. Tento produkt používají profesionálové v diagnostických laboratořích.

Sada **NucleoSpin® Dx Virus** není vhodná k samotestování ani testování přímo u pacienta. Uživateli této sady musí mít zkušenosti s molekulárně biologickými technikami včetně práce se sérem, plazmou a jinými potenciálně infekčními lidskými vzorky.

Je doporučeno používat vhodné kontroly, jako např. vnitřní kontroly, extrakční kontroly a pozitivní/negativní kontroly.

2.2 Omezení použití produktu

Sada **NucleoSpin® Dx Virus** není určena k použití se vzorky lidské plné krve, tkáně nebo stolice ani s kultivovanými buňkami.

Funkce sady nebyla hodnocena s jinými vzorky bezbuněčných tekutin, jako je moč nebo mozkomíšní mok.

Sada rovněž není určena k izolaci a purifikaci bakteriálních, plísňových nebo parazitárních nukleových kyselin z lidských vzorků ani k izolaci virových nukleových kyselin ze vzorků lidských stěrů nebo jiných systémů pro odběr vzorků.

Kromě lidských vzorků je možné sadu **NucleoSpin® Dx Virus** snadno použít i u čerstvých a mražených zvířecích vzorků. Vzorky zahrnují mimo jiné sérum, plazmu nebo stěry. Je nutné poznamenat, že označení CE IVD sady se nevztahuje na zvířecí vzorky, ale je omezeno pouze na diagnostické použití u lidí.

2.3 Kontrola kvality

V souladu se systémem pro řízení kvality společnosti MACHEREY-NAGEL je každá šarže sady **NucleoSpin® Dx Virus** testována proti předem definovaným specifikacím, aby byla zajištěna stálá kvalita těchto produktů.

2.4 Úvod a specifikace sady

Sada **NucleoSpin® Dx Virus** je založena na osvědčené technologii křemíkových membrán **NucleoSpin®** a poskytuje snadný způsob současné izolace virové RNA a virové DNA ze 150 µL vzorků séra nebo plazmy. Purifikovaná RNA a DNA jsou připraveny k použití pro následné amplifikace, jako je RT-PCR nebo PCR.

Postup použití sady **NucleoSpin® Dx Virus** je založen na sérii jednoduchých kroků:

Nejprve se vzorky séra nebo plazmy lyzují za přítomnosti chaotropních solí. Pro purifikaci virové DNA se do lyzační reakce přidá proteináza Proteinase K. Lytický pufr Lysis Buffer a etanol vytvoří vhodné podmínky k navázání nukleových kyselin na křemíkovou membránu kolon **NucleoSpin® Dx Virus Column**. Nosič Carrier RNA zlepšuje vazbu a obnovu níže koncentrované virové RNA a DNA. Kontaminace (potenciální inhibitory PCR), jako jsou soli, metabolity a rozpustné makromolekulární buněčné složky, se odstraní v promývacích krocích pomocí etanolových pufrů Ethanol Buffer RAW a Ethanol Buffer RAV3. Nukleové kyseliny se nakonec eluují v 50 µL pufru s nízkým obsahem soli nebo vody.

Nosič Carrier RNA

Nosič Carrier RNA zlepšuje funkci této sady. Nosič Carrier RNA slouží k podpoře vázání virových nukleových kyselin na kolony **NucleoSpin® Column** a snižuje riziko degradace virové RNA. Upozorňujeme, že vymyté vzorky po použití sady **NucleoSpin® Dx Virus** obsahují jak virové nukleové kyseliny, tak nosiče Carrier RNA, přičemž množství nosičů Carrier RNA může překračovat množství virových nukleových kyselin. Z toho důvodu nelze kvantifikovat nukleové kyseliny izolované touto sadou s použitím nosiče Carrier RNA pomocí fotometrických nebo fluorimetrických metod. Jsou proto doporučeny jiné metody kvantifikace, jako např. systémy pro specifické kvantitativní PCR nebo RT-PCR. Nosiče Carrier RNA mohou ve vzácných případech také inhibovat reakce PCR. Množství přidaného nosiče Carrier RNA proto má být pečlivě přizpůsobeno podle konkrétního systému pro PCR, který používáte.

Specifikace sady

- Sada **NucleoSpin® Dx Virus** slouží k rychlé přípravě vysoce čisté virové RNA a DNA (např. HCV, HIV, HBV, CMV, H1N1) z plazmy a séra.
- Sada **NucleoSpin® Dx Virus** je vhodná pro 150 µL vzorky séra nebo plazmy.
- Virové nukleové kyseliny izolované a purifikované pomocí sady **NucleoSpin® Dx Virus** lze použít v kvalitativních aplikacích (např. RT-PCR nebo PCR pro screening krve) i v kvantitativních aplikacích (např. detekce virové zátěže pomocí qPCR) s využitím diagnostických technik amplifikace nukleových kyselin.
- Protokoly k izolaci virové RNA, k izolaci virové DNA a k současné izolaci virové RNA a DNA jsou obsaženy v uživatelské příručce.
- Připravené nukleové kyseliny jsou vhodné k aplikacím, jako je automatická fluorescenční sekvenace DNA, RT-PCR nebo jakýkoli druh enzymatické reakce. Detekční limit u některých virů závisí na jednotlivých postupech (např. interní vnořená (RT-)PCR). Aby

se minimalizovaly nepravdělnosti v diagnostických výsledcích, mají se používat vhodné kontroly pro následné aplikace (např. extrakční kontroly, pozitivní/negativní kontroly) k monitorování procesu purifikace, amplifikace a detekce.

- Kromě lidských vzorků je možné sadu **NucleoSpin® Dx Virus** snadno použít i u čerstvých a mražených zvířecích vzorků. Vzorky zahrnují mimo jiné sérum, plazmu nebo stěry. Je nutné poznamenat, že označení CE IVD sady se nevztahuje na zvířecí vzorky, ale je omezeno pouze na diagnostické použití u lidí.

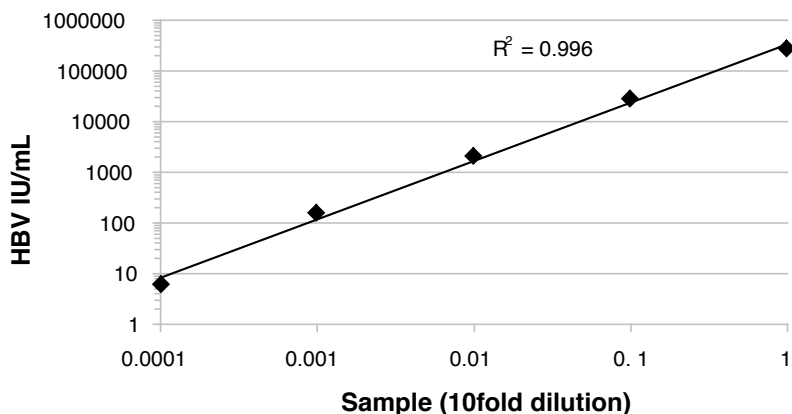
Tabulka 1: Přehled specifikací sady

Parametr	NucleoSpin® Dx Virus
Technologie	Technologii křemíkových membrán
Materiál vzorků	Sérum nebo plazma
Objem vzorku	150 µL
Eluční objem	50 µL
Čas přípravy	30 min / 4 – 6 dávek
Zpracování	Odstředění

2.5 Analytická a klinická funkce

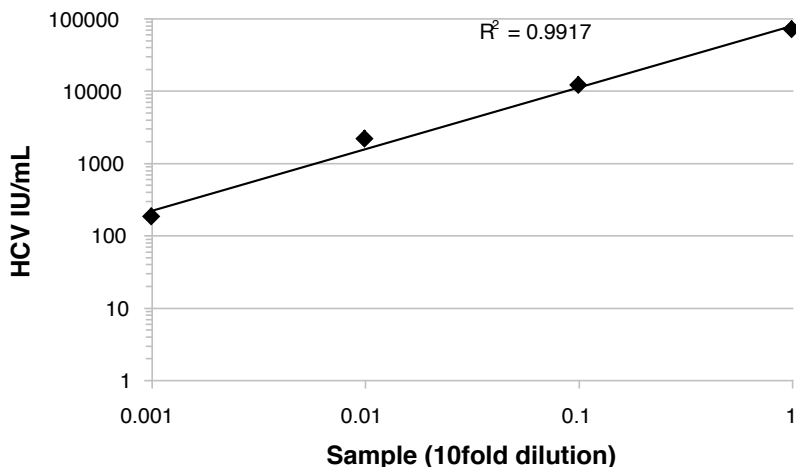
Lineární rozsah postupu použití sady **NucleoSpin® Dx Virus** byl stanoven pro HCV RNA a HBV DNA v navazujících diagnostických analýzách (Obrázek 1 a Obrázek 2). Sada vykazuje linearitu v mnohonásobném řádovém rozsahu, který zahrnuje relevantní titr viru pro diagnostické účely. Opakovatelnost v rámci jednoho běhu byla testována pomocí RT-qPCR MS2-RNA a qPCR T7-DNA. U šesti vzorků spike, každý ve třech opakováních, která pokrývají mnohonásobný řádový rozsah, činil variační koeficient (CV) Cp hodnot 0,2–0,9 % pro T7-DNA a 0,6–5,6 % pro MS2-RNA. Opakovatelnost mezi jednotlivými běhy byla testována ve 2 nezávislých bězích. U každého ze šesti vzorků plazmy byl rozdíl mezi průměrnými Ct hodnotami obou běhů 0,1 cyklu, což odpovídá rozdílu 0,4 % mezi průměrnými Ct hodnotami obou běhů. Opakovatelnost mezi jednotlivými šaržemi byla testována se třemi šaržemi sady NucleoSpin® Dx Virus. gDNA ze vzorků plazmy byla izolována pro každou šarži (n = 6). Průměrná Ct hodnota pro tři testované šarže byla 27,63 Ct se směrodatnou odchylkou 0,07 Ct hodnoty. Podobným způsobem byl ze vzorků plazmy izolován spike MS2-RNA a analyzován pomocí qRT-PCR. Průměrná Ct hodnota pro tři testované šarže byla 25,34 Ct se směrodatnou odchylkou 0,25 Ct hodnoty.

Reprodukovatelnost mezi jednotlivými pracovníky byla testována pomocí RT-qPCR MS2-RNA. Ve dvou bězích provedených dvěma pracovníky, každý se šesti vzorky plazmy, činil rozdíl mezi průměrnými Ct hodnotami obou pracovníků 0,6 cyklů, což odpovídá rozdílu 3 % mezi průměrnými Ct hodnotami obou pracovníků.



Obrázek 1 Sériové ředění vzorku plazmy s vysokou zátěží viru HBV.

PCR v reálném čase HBV DNA: Sada Artus RealArt HBV DNA, kvantifikace na přístroji Roche LightCycler® 480.



Obrázek 2 Sériové ředění vzorku plazmy s vysokou zátěží viru HCV.

RT-PCR v reálném čase HCV RNA: Sada Artus RealArt HCV RNA, kvantifikace na přístroji Roche LightCycler® 480.

Za účelem hodnocení klinické funkce byly virové nukleové kyseliny izolovány ze vzorků plazmy a amplifikovány pomocí analýz qPCR a RT-qPCR. Virová zátěž zjištěná pomocí sady NucleoSpin® Dx Virus byla porovnána s referenčním systémem (automatizovaný systém izolace nukleových kyselin od společnosti Abbott). Pro každý virus byly vyhodnoceny 8 pozitivních a 2 negativní vzorky a 1 pozitivní a 1 negativní kontrola. Pro HBV byly diagnostická senzitivita a diagnostická specifita 100 %. Pro HCV byla diagnostická senzitivita 89 %, zatímco diagnostická specifita byla 100 %. Pro HIV byla diagnostická senzitivita 78 % a diagnostická specifita byla 100 %.

Příklady diagnostického použití sady **NucleoSpin® Dx® Virus** *in vitro* jsou uvedeny v následujících publikacích:

Raharinosy, V. *et al.* (2019) Fast, Sensitive and Specific Detection of Thailand orthohantavirus and its Variants Using One-Step Real-Time Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction Assay. *Viruses*, 11(8), 718.

Kassela, K. *et al.* (2019) Intergenotypic 2k/1b hepatitis C virus recombinants in the East Macedonia and Thrace region of Greece. *Ann Gastroenterol.*, 32(1), 88–92.

Mousavi, S. H. *et al.* (2019) First Report of Prevalence of Blood-Borne Viruses (HBV, HCV, HIV, HTLV-1 and Parvovirus B19) Among Hemophilia Patients in Afghanistan. *Sci Rep.*, 9(1), 7259.

Hesamizadeh, K. *et al.* (2016) Molecular Epidemiology of Kaposi's Sarcoma-Associated Herpes Virus, and Risk Factors in HIV-infected Patients in Tehran, 2014. *Iran Red Crescent Med J.*, 18(11), e32603.

Lescure, F.-X. *et al.* (2020) Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(6), 697.

Thacker, V. V. *et al.* (2020) Rapid endothelialitis and vascular inflammation characterise SARS-CoV-2 infection in a human lung-on-chip model, *BioRxiv*, <https://doi.org/10.1101/2020.08.10.243220>, 2020

Gabaro, F. *et al.* (2020) Introductions and early spread of SARS-CoV-2 in France, *BioRxiv*, <https://doi.org/10.1101/2020.04.24.059576>

2.6 Poznámky týkající se kvality a přípravy vzorků

- Sada **NucleoSpin® Dx Virus** je vhodná pro vzorky lidského séra nebo plazmy. Je velmi důležité vyvarovat se čištění vzorků odstředováním/filtrací před krokem lyzy pufrém RAV1, protože viry mohou být spojeny s částicemi nebo agregáty.
- K úspěšné purifikaci nukleových kyselin je důležité získat homogenní, čistý a neviskózní lyzát vzorku před úpravou podmínek vazby a vložením vzorku do kolony **NucleoSpin® Dx Virus Column**. Zkontrolujte všechny lyzáty (zejména staré nebo mražené vzorky), zda se v nich nevytvořily sraženiny. Inkubaci pomocí pufru Buffer RAV1 je možné prodloužit, aby se rozpustily a rozložily reziduální buněčné struktury, sraženiny a virové částice. RNA je však citlivá a prodloužená inkubace může způsobit snížení výtěžnosti.

2.7 Poznámky týkající se eluce

- Čisté nukleové kyseliny se nakonec eluují za podmínek nízké iontové síly pomocí H₂O bez obsahu RNáz RNase-free H₂O (pH přibližně 7–8) nebo mírně alkalického pufru Buffer RE (5 mM Tris-HCl, pH 8,5), oba jsou součástí balení sady **NucleoSpin® Dx Virus**.
- RNA se má eluovat s H₂O bez obsahu RNáz RNase-free H₂O a DNA pomocí elučního pufru Elution Buffer RE.
- K současné eluci obou typů nukleových kyselin použijte H₂O bez obsahu RNáz RNase-free H₂O dodávanou se sadou, předehřátou na teplotu 70 °C.

Skladování nukleových kyselin

Doporučení:

Krátkodobé skladování (do 24 h): 2–8 °C

Dlouhodobé skladování (přes 24 h): –20 °C

3 Podmínky skladování a příprava pracovních roztoků

Pozor: Pufr Buffer RAV1 obsahuje guanidinium thiokyanát a pufr Buffer RAW obsahuje guanidin hydrochlorid, které mohou v kombinaci s bělidlem (chlornanem sodným) tvořit vysoce reaktivní sloučeniny. NEPŘIDÁVEJTE přímo do odpadu po přípravě vzorků bělidlo ani kyselé roztoky.

- Po obdržení sady zkontrolujte, jestli některá ze součástí není poškozená. Pokud jsou součásti sady, jako např. lahvičky s pufrů nebo blistry, poškozené, obraťte se na technickou podporu a zákaznický servis společnosti MACHEREY-NAGEL či na svého místního distributora.
- Poškozené součásti sady nepoužívejte.
- Po dodání musí být sada **NucleoSpin® Dx Virus** skladována při pokojové teplotě (18–25 °C). NENÍ nutné sadu při dodání otevřít a vyjmout jednotlivé součásti k oddělenému skladování.
- Kolony **NucleoSpin® Dx Virus Column** lze používat až do uplynutí data spotřeby nacházejícího se na krabici sady.
- Používejte vybavení bez obsahu RNáz.

Před zahájením protokolu **NucleoSpin® Dx Virus** si připravte následující:

- **Lyofilizovanou proteinázu Proteinase K** lze skladovat při pokojové teplotě (18–25 °C) až do uplynutí data spotřeby, aniž by se snížila její funkce. Před prvním použitím sady přidejte uvedený objem pufru proteinázy **Proteinase Buffer PB**, abyste rozpustili lyofilizovanou proteinázu Proteinase K. Rekonstituovanou proteinázu Proteinase K lze skladovat při teplotě –20 °C po dobu až 6 měsíců, ale pouze do uplynutí data spotřeby.
- Nosič Carrier RNA: Před prvním použitím přidejte do zkumavky s nosičem **Carrier RNA 1** mL lytického pufru **Lysis Buffer RAV1**. Rozpusťte nosič Carrier RNA a roztok napipetujte zpět do lahvičky pufru Buffer RAV1.
Poznámka: Kvůli postupu výroby a nízkému množství nosiče Carrier RNA ve zkumavce může být nosič RNA obtížně viditelný.

Lytický pufr Lysis Buffer RAV1 včetně nosiče Carrier RNA lze skladovat při teplotě 4 °C po dobu až 4 týdnů. Skladování při teplotě 4 °C nebo nižší může způsobit vysrážení solí. Pokud jsou viditelné sraženiny, zkontrolujte, jestli se všechny sraženiny před použitím rozpustí zahříváním při teplotě 40–60 °C po dobu maximálně 5 min. Nosič Carrier RNA rozpuštěný v pufru Buffer RAV1 a skladovaný při teplotě –20 °C je stabilní po dobu nejméně jednoho roku.

Pufr Buffer RAV1 obsahující nosič Carrier RNA nezahřívajte více než 4krát! Časté zahřívání, teploty > 80 °C a déletrvající inkubace v teple urychlují degradaci nosiče Carrier RNA.

- **Promývací pufr Wash Buffer RAV3:** Do koncentráту promývacího pufru **Wash Buffer RAV3 Concentrate** přidejte uvedený objem (viz tabulka níže nebo na lahvičce) etanolu (96–100 %). Označte štítek lahvičky, aby bylo zřejmé, že je přidán etanol. Promývací pufr Wash Buffer RAV3 skladujte při pokojové teplotě. Promývací pufr Wash Buffer RAV3 lze skladovat při pokojové teplotě (18–25 °C) po dobu až jednoho roku, ale pouze do uplynutí data spotřeby.

NucleoSpin® Dx Virus**REFERENCE****50 dávek****740895.50**

Koncentrát promývacího pufru Wash Buffer RAV3 (Concentrate)

12 mL
Přidejte 48 mL etanolu.

Proteináza Proteinase K

30 mg
Přidejte 1,35 mL pufru proteinázy Proteinase Buffer PB

4 Bezpečnostní pokyny

Při práci se sadou **NucleoSpin® DX Virus** používejte vhodné osobní ochranné prostředky (např. laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle). Více informací je k dispozici v příslušných bezpečnostních listech (Material Safety Data Sheets, MSDS, které jsou k dispozici online na adrese <http://www.mn-net.com/msds>).



Upozornění: Guanidin hydrochlorid v pufru Buffer RAW a guanidinium thiokyanát v pufru Buffer RAV1 mohou v kombinaci s bělidlem tvořit vysoce reaktivní sloučeniny! Proto nepřidávejte přímo do odpadu po přípravě vzorků bělidlo ani kyselé látky.

Odpad vznikající při používání sady **NucleoSpin® DX Virus** nebyl testován na přítomnost reziduálního infekčního materiálu. Kontaminace kapalného odpadu reziduálním infekčním materiálem je vysoce nepravděpodobná díky použití silného denaturujícího lytického pufru Lysis Buffer a proteinázy Proteinase K, ale nelze ji zcela vyloučit. Proto je nutné považovat kapalný odpad za infekční a nakládat s ním a likvidovat jej v souladu s místními bezpečnostními předpisy.

4.1 Likvidace

Likvidujte nebezpečné, infekční nebo biologicky kontaminované materiály bezpečným a přijatelným způsobem, který je v souladu se všemi místními předpisy.

5 Purifikace virových nukleových kyselin pomocí sady NucleoSpin® Dx Virus

Níže uvedené postupy obsahují pokyny ke zpracování jednoho vzorku plazmy nebo séra. Je však možné zpracovat několik vzorků najednou. Jejich počet závisí na kapacitě použité mikroadstředivky.

Před zahájením přípravy:

- Zkontrolujte, jestli byly promývací pufr Wash Buffer RAV3 a proteináza Proteinase K připraveny podle části 3.
- Zkontrolujte, jestli byl nosič Carrier RNA rozpuštěn v lytickém pufru Lysis Buffer RAV1 podle části 3.
- Zkontrolujte, zda je dostupný 96–100 % etanol (denaturovaný nebo nedenaurovaný) k úpravě podmínek vazby nukleových kyselin.
- Nastavte inkubátor (např. ohřívací blok) nebo vodní lázeň na teplotu 70 °C.
- Vyrovnejte teplotu vzorků plazmy/séra s pokojovou teplotou (18–25 °C). Zkontrolujte, jestli jsou vzorky správně promíchány.
- Pokud se v lytickém pufru Lysis Buffer RAV1 nebo pufru Buffer RAW vytvořila sraženina, inkubujte pufr při teplotě 40–60 °C, dokud se sraženina nerozpustí.
- Obecně platí, že se nesmí míchat reagenty a kolony z různých sad a šarží.
- Ke konečné eluci nukleových kyselin zahřejte H₂O bez obsahu RNáz RNase-free H₂O / eluční pufr Elution Buffer RE na teplotu 70 °C.
- Nepřidávejte roztok proteinázy Proteinase K přímo do lytického pufru Lysis Buffer RAV1. Vzorek musí být nejprve smíchán s lytickým pufr Lysis Buffer RAV1, než bude přidána proteináza Proteinase K.
- Všechny kroky odstřeďování mají být prováděny při pokojové teplotě (18–25 °C).

5.1 Přehled protokolu

Dodatečný přehled protokolu:

Než zahájíte postup, pečlivě si přečtěte podrobný protokol (část 5.2.5.4).

Poznámka: Protokoly se liší pouze v kroku lýzy proteinázou Proteinase K (krok 3) a v kroku eluce (krok 24).

		Postup izolace virové RNA (část 5.2)	Postup izolace virové DNA (část 5.3)	Postup izolace virové RNA + DNA (část 5.4)
Dodání vzorku, lýzace virů, vyčištění lyzátu	1	150 µL vzorku v lýzačních zkumavkách Lysis Tube	150 µL vzorku v lýzačních zkumavkách Lysis Tube	150 µL vzorku v lýzačních zkumavkách Lysis Tube
	2	600 µ pufru Buffer RAV1 obsahujícího nosič Carrier RNA	600 µ pufru Buffer RAV1 obsahujícího nosič Carrier RNA	600 µ pufru Buffer RAV1 obsahujícího nosič Carrier RNA
	3	<i>Poznámka: Při izolaci pouze virové RNA se proteináza Proteinase K nepoužívá</i>	20 µL proteinázy Proteinase K (inkubace po dobu alespoň 1 min při pokojové teplotě)	20 µL proteinázy Proteinase K (inkubace po dobu alespoň 1 min při pokojové teplotě)
	4	Pipetování směsi nahoru a dolů a řádné promíchání vířením	Pipetování směsi nahoru a dolů a řádné promíchání vířením	Pipetování směsi nahoru a dolů a řádné promíchání vířením
	5	Inkubace při teplotě 70 °C po dobu 5 min.	Inkubace při teplotě 70 °C po dobu 5 min.	Inkubace při teplotě 70 °C po dobu 5 min.
	6	Krátké odstředění k očištění víka	Krátké odstředění k očištění víka	Krátké odstředění k očištění víka
Úprava podmínek vazby	7	600 µL etanolu	600 µL etanolu	600 µL etanolu
	8	Promíchání vířením (10–15 s)	Promíchání vířením (10–15 s)	Promíchání vířením (10–15 s)
Navázání RNA/DNA	9	Vložení 700 µL lyzátu do kolony NucleoSpin® Dx Virus Column	Vložení 700 µL lyzátu do kolony NucleoSpin® Dx Virus Column	Vložení 700 µL lyzátu do kolony NucleoSpin® Dx Virus Column
	10	8 000 × g, 1 min	8 000 × g, 1 min	8 000 × g, 1 min

	11	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube
	12	Vložení reziduálního lyzátu (přibl. 650 µL) do kolony	Vložení reziduálního lyzátu (přibl. 650 µL) do kolony	Vložení reziduálního lyzátu (přibl. 650 µL) do kolony
	13	8 000 × <i>g</i> , 1 min	8 000 × <i>g</i> , 1 min	8 000 × <i>g</i> , 1 min
	14	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube
Promytí křemikové membrány	15	500 µL pufru RAW	500 µL pufru RAW	500 µL pufru RAW
	16	8 000 × <i>g</i> , 1 min	8 000 × <i>g</i> , 1 min	8 000 × <i>g</i> , 1 min
	17	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube
	18	600 µL pufru RAV3	600 µL pufru RAV3	600 µL pufru RAV3
	19	8 000 × <i>g</i> , 1 min	8 000 × <i>g</i> , 1 min	8 000 × <i>g</i> , 1 min
	20	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube
	21	200 µL pufru RAV3	200 µL pufru RAV3	200 µL pufru RAV3
	22	11 000 × <i>g</i> , 3 min	11 000 × <i>g</i> , 3 min	11 000 × <i>g</i> , 3 min
Eluce RNA/ DNA	23	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Virus Column do eluční zkumavky Elution Tube	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Virus Column do eluční zkumavky Elution Tube	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Virus Column do eluční zkumavky Elution Tube

24	50 µL H₂O bez obsahu RNáz RNase-free H₂O (70 °C) Inkubace po dobu 1–2 min	50 µL pufru Buffer RE (70 °C). Inkubace po dobu 1–2 min	50 µL H₂O bez obsahu RNáz RNase-free H₂O (70 °C) Inkubace po dobu 1–2 min
25	11 000 × g, 1 min	11 000 × g, 1 min	11 000 × g, 1 min

5.2 Postup izolace virové RNA

- 1 Dodejte **150 µL vzorku** do lyzační zkumavky Lysis Tube (1,5 mL, součástí balení).
 - 2 Do lyzační zkumavky Lysis Tube přidejte **600 µL pufru Buffer RAV1** obsahujícího nosič Carrier RNA.
 - 3 *Poznámka: Při izolaci pouze virové RNA se proteináza Proteinase K nepoužívá.*
 - 4 Pipetování směsi nahoru a dolů a řádné promíchání vířením
 - 5 Inkubujte po dobu **5 min** při teplotě **70 °C**.
 - 6 **Krátce odstředíte** lyzační zkumavku Lysis Tube (přibližně 1 s při 2 000 × g), abyste odstranili kapky z víka (pouze krátké odstředění).
-
- 7 Do čistého lyzátu přidejte **600 µL etanolu** (96 – 100 %).
 - 8 Promíchání vířením (10 – 15 s)
-
- 9 Opatrně vložte **700 µL lyzátu** do kolony **NucleoSpin® Dx Virus Column** umístěné v odběrové zkumavce Collection Tube a zavřete víko.
 - 10 **Odstředíte po dobu 1 min** při **8 000 × g**.
 - 11 Umístíte kolonu **NucleoSpin® Dx Virus Column** do nové odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujete.
 - 12 Vložte **reziduální lyzát** (přibližně 650 µL) do kolony NucleoSpin® Dx Virus Column a zavřete víko.
 - 13 **Odstředíte po dobu 1 min** při **8 000 × g**.
 - 14 Umístíte kolonu NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujete.
-
- 15 Přidejte **500 µL pufru Buffer RAW** do kolony NucleoSpin® Dx Virus Column.
 - 16 **Odstředíte po dobu 1 min** při **8 000 × g**.
 - 17 Umístíte kolonu NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujete.
 - 18 Přidejte **600 µL pufru Buffer RAV3** do kolony NucleoSpin® Dx Virus Column.
 - 19 **Odstředíte po dobu 1 min** při **8 000 × g**.

- 20 Umístěte kolonu NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujte.
- 21 Přidejte **200 µL pufru Buffer RAV3** do kolony NucleoSpin® Dx Virus Column.
- 22 **Odstředějte po dobu 3 min při 11 000 × g.**
-
- 23 Umístěte kolonu NucleoSpin® Dx Virus Column do eluční zkumavky Elution Tube (1,5 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujte.
- 24 Přidejte **50 µL H₂O bez obsahu RNáz RNase-free H₂O** (předehřátých na teplotu 70 °C) a inkubujte po dobu 1–2 min.
- 25 **Odstředějte po dobu 1 min při 11 000 × g**, aby se eluovala nukleová kyselina z kolony.
-

5.3 Postup izolace virové DNA

- 1 Dodejte **150 µL vzorku** do lyzační zkumavky Lysis Tube (1,5 mL, součástí balení).
 - 2 Do lyzační zkumavky Lysis Tube přidejte **600 µL pufru Buffer RAV1** obsahujícího nosič Carrier RNA.
 - 3 Přidejte **20 µL roztoku proteinázy Proteinase K** do lyzační zkumavky Lysis Tube.
Poznámka: Proteináza Proteinase K je nezbytná pro lýzu DNA virů.
 - 4 Pipetování směsi nahoru a dolů a řádné promíchání vířením
Poznámka: Před zahájením tepelné inkubace zkontrolujte, jestli je směs inkubována po dobu alespoň 1 min při pokojové teplotě.
 - 5 Inkubujte po dobu **5 min** při teplotě **70 °C**.
 - 6 **Krátce odstředíte** lyzační zkumavku Lysis Tube (přibližně 1 s při 2 000 × g), abyste odstranili kapky z víka (pouze krátké odstředění).
-
- 7 Do čistého lyzátu přidejte **600 µL etanolu** (96–100 %).
 - 8 Promíchání vířením (10–15 s)
-
- 9 Opatrně vložte **700 µL lyzátu** do kolony **NucleoSpin® Dx Virus Column** umístěné v odběrové zkumavce Collection Tube a zavřete víko.
 - 10 **Odstředíte po dobu 1 min** při **8 000 × g**.
 - 11 Umístěte kolonu **NucleoSpin® Dx Virus Column** do nové odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujte.
 - 12 Vložte **reziduální lyzát** (přibližně 650 µL) do kolony NucleoSpin® Dx Virus Column a zavřete víko.
 - 13 **Odstředíte po dobu 1 min** při **8 000 × g**.
 - 14 Umístěte kolonu NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujte.
-
- 15 Přidejte **500 µL pufru Buffer RAW** do kolony NucleoSpin® Dx Virus Column.
 - 16 **Odstředíte po dobu 1 min** při **8 000 × g**.
 - 17 Umístěte kolonu NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujte.
 - 18 Přidejte **600 µL pufru Buffer RAV3** do kolony NucleoSpin® Dx Virus Column.
 - 19 **Odstředíte po dobu 1 min** při **8 000 × g**.

- 20** Umístěte kolonu NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujte.
- 21** Přidejte **200 µL pufru Buffer RAV3** do kolony NucleoSpin® Dx Virus Column.
- 22** **Odstředějte po dobu 3 min při 11 000 × g.**
-
- 23** Umístěte kolonu NucleoSpin® Dx Virus Column do eluční zkumavky Elution Tube (1,5 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujte.
- 24** Přidejte **50 µL pufru Buffer RE** (předeřtých na teplotu 70 °C) a inkubujte po dobu 1–2 min.
- 25** **Odstředějte po dobu 1 min při 11 000 × g,** aby se eluovala nukleová kyselina z kolony.
-

5.4 Postup současné izolace virové RNA a DNA

- 1 Dodejte **150 µL vzorku** do lyzační zkumavky Lysis Tube (1,5 mL, součástí balení).
 - 2 Do lyzační zkumavky Lysis Tube přidejte **600 µL pufru Buffer RAV1** obsahujícího nosič Carrier RNA.
 - 3 Přidejte **20 µL roztoku proteinázy Proteinase K** do lyzační zkumavky Lysis Tube.
Poznámka: Proteináza Proteinase K je nezbytná pro lýzu DNA virů.
 - 4 Pipetování směsi nahoru a dolů a řádné promíchání vířením
Poznámka: Před zahájením tepelné inkubace zkontrolujte, jestli je směs inkubována po dobu alespoň 1 min při pokojové teplotě.
 - 5 Inkubujte po dobu **5 min** při teplotě **70 °C**.
 - 6 **Krátce odstředíte** lyzační zkumavku Lysis Tube (přibližně 1 s při 2 000 × g), abyste odstranili kapky z víka (pouze krátké odstředění).
-
- 7 Do čistého lyzátu přidejte **600 µL etanolu** (96–100 %).
 - 8 Promíchání vířením (10–15 s)
-
- 9 Opatrně vložte **700 µL lyzátu** do kolony **NucleoSpin® Dx Virus Column** umístěné v odběrové zkumavce Collection Tube a zavřete víko.
 - 10 **Odstředíte po dobu 1 min** při **8 000 × g**.
 - 11 Umístěte kolonu NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujte.
 - 12 Vložte **reziduální lyzát** (přibližně 650 µL) do kolony NucleoSpin® Dx Virus Column a zavřete víko.
 - 13 **Odstředíte po dobu 1 min** při **8 000 × g**.
 - 14 Umístěte kolonu NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujte.
-
- 15 Přidejte **500 µL pufru Buffer RAW** do kolony NucleoSpin® Dx Virus Column.
 - 16 **Odstředíte po dobu 1 min** při **8 000 × g**.
 - 17 Umístěte kolonu NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujte.
 - 18 Přidejte **600 µL pufru Buffer RAV3** do kolony NucleoSpin® Dx Virus Column.
 - 19 **Odstředíte po dobu 1 min** při **8 000 × g**.

- 20** Umístěte kolonu NucleoSpin® Dx Virus Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujte.
- 21** Přidejte **200 µL pufu Buffer RAV3** do kolony NucleoSpin® Dx Virus Column.
- 22** **Odstředějte po dobu 3 min při 11 000 × g.**
-
- 23** Umístěte kolonu NucleoSpin® Dx Virus Column do eluční zkumavky Elution Tube (1,5 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujte.
- 24** Přidejte **50 µL H₂O bez obsahu RNáz RNase-free H₂O** (předehřátých na teplotu 70 °C) a inkubujte po dobu 1–2 min.
- 25** **Odstředějte po dobu 1 min při 11 000 × g,** aby se eluovala nukleová kyselina z kolony.
-

6 Dodatek

6.1 Řešení problémů

Problém	Možná příčina a doporučení
V eluátu je malé nebo žádné množství virových nukleových kyselin	<i>Nízká virová zátěž ve vzorku</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Výtěžnost nukleových kyselin závisí na virové zátěži ve vzorku.
	<i>Problémy s nosičem Carrier RNA</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Nosič Carrier RNA nebyl přidán. Viz poznámky týkající se skladování pufru Buffer RAV1 s nosičem Carrier RNA (část 3).
Vzorky mají být ihned zpracovány. Zajistěte vhodné podmínky skladování až do zpracování.	<i>Může být nutné štěpení proteinázou Proteinase K</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Zvolte vhodný protokol pro izolaci virové RNA nebo virové DNA, viz část 5.1.
	<i>Degradace virových nukleových kyselin</i>
Problémy s následnou detekcí	<ul style="list-style-type: none"> Vzorky mají být ihned zpracovány. Zajistěte vhodné podmínky skladování až do zpracování. Zkontrolujte, jestli byly všechny pufrы správně připraveny a skladovány. V případě pochybností použijte nové alikvoty pufru Buffer RAV1, nosiče Carrier RNA a elučního pufru Elution Buffer RE.
	<i>Snížená senzitivita</i>
Problémy s následnou detekcí	<ul style="list-style-type: none"> Změňte objem eluátu přidávaného do PCR/RT-PCR.
	<i>Přenesení etanolu</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Prodlužte krok odstředování (krok 22), abyste zcela odstranili pufr Buffer RAV3.

Kontaktní údaje:
 MACHEREY-NAGEL, Německo
 Tel.: +49 (0) 24 21 969 270
 E-mail: TECH-BIO@mn-net.com

6.2 Povinné hlášení

Upozorňujeme, že jakoukoli závažnou událost, která se vyskytne v souvislosti s tímto produktem, je nutné ihned nahlásit výrobci a odpovědnému orgánu členského státu, ve kterém k události došlo. Evropské kontaktní body vigilance: https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_en

6.3 Přehled literatury

Thiemann F. *et al.* (2006) Leitfaden Molekulare Diagnostik - Grundlagen, Gesetze, Tipps und Tricks, WILEY-VCH, ISBN 3-527-31471-7.

Sawoo, O. *et al.* (2014) Cleavage of Hemagglutinin-Bearing Lentiviral Pseudotypes and Their Use in the Study of Influenza Virus Persistence. *PLoS One*. 9(8), e106192. Published online 2014 Aug 28. doi: 10.1371/journal.pone.0106192.











Sundarajan S. *et al.* (2018) Addressing false negatives in viral diagnostic polymerase chain reactions: A new approach. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research*, IJAMBR 6, 32 – 49.

6.4 Informace pro objednávky

Produkt	REFERENCE	Velikost balení
Sady s označením CE-IVD		
NucleoSpin® Dx Virus	740895.50	50
NucleoSpin® Dx Blood	740899.50/.250	50/250
Sady pro výzkumné účely		
NucleoSpin® Virus	740983.10/.50/.250	10/50/250
NucleoSpin® RNA Virus F	740958	25
NucleoSpin® totalRNA FFPE XS	740969.10/.50/.250	10/50/250
NucleoSpin® totalRNA FFPE	740982.10/.50/.250	10/50/250
NucleoSpin® DNA FFPE XS	740980.10/.50/.250	10/50/250
NucleoSpin® Blood	740951.10/.50/.250	10/50/250
NucleoSpin® Tissue	740952.10/.50/.250	10/50/250
NucleoSpin® Tissue XS	740901.10/.50/.250	10/50/250
NucleoSpin® miRNA	740971.10/.50/.250	10/50/250
Proteináza Proteinase K	740506	100 mg
Odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL)	740600	1 000

Více informací o produktech najdete na adrese www.mn-net.com.

6.5 Vysvětlivky symbolů

 Číslo položky	 Dostatečné pro tento počet testů: < n>
 Identifikace šarže	 Přípustný rozsah teplot pro skladování
 Výrobce	 Datum spotřeby
 Diagnostické produkty <i>in vitro</i>	 Upozornění: Více informací najdete v uživatelské příručce.
 Nastudujte si návod k použití.	 Nepoužívejte opakovaně.

6.6 Omezení použitelnosti produktu / záruka

Sada **NucleoSpin® Dx Virus** je generický systém k izolaci a purifikaci virových nukleových kyselin ze vzorků lidské plazmy a séra k následným diagnostickým účelům *in vitro*.

Tuto sadu lze použít s jakoukoli následnou aplikací, která zahrnuje enzymatickou amplifikaci a detekci RNA a DNA (např. RT-PCR, PCR).

Jakékoli diagnostické výsledky získané z nukleových kyselin izolovaných pomocí sady **NucleoSpin® Dx Virus** společně s dalšími diagnostickými analýzami je nutné interpretovat s ohledem na další klinické i laboratorní nálezy.

Sada **NucleoSpin® Dx Virus** nevytváří žádné diagnostické výsledky. Je výhradní odpovědností uživatele, aby tuto sadu validoval společně s následnými diagnostickými analýzami *in vitro*. POUZE produkty společnosti MACHEREY-NAGEL označené jako IVD jsou vhodné k diagnostickému použití *in vitro*.

Bezpečnostní pokyny najdete v příslušné kapitole uživatelské příručky. Sadu **NucleoSpin® Dx Virus** se smí používat výhradně ve vhodných podmínkách pro testování, tzn. ve vhodném laboratorním prostředí. Uživatel je odpovědný za jakoukoli a veškerou škodu, která vznikne jiným použitím aplikace **NucleoSpin® Dx Virus**, než je zamýšlené použití uvedené v uživatelské příručce.

Tento produkt společnosti MACHEREY-NAGEL je dodáván společně s dokumentací, která obsahuje jeho specifikace a další technické informace. Společnost MACHEREY-NAGEL zaručuje, že produkt splňuje uvedené specifikace. Závazek společnosti MACHEREY-NAGEL a nárok zákazníka je omezen na bezplatnou výměnu produktů v případě, že nesplňují uvedené záruky. Na produkt se také vztahují obecné obchodní podmínky společnosti MACHEREY-NAGEL, které jsou vytištěny na ceníku. Pokud si přejete jejich kopii, kontaktujte nás.

Společnost MACHEREY-NAGEL neposkytuje záruku na škody nebo závady vzniklé při přepravě produktu a manipulaci s ním (mimo transportní pojištění pro zákazníky) nebo v důsledku nehody či nesprávného použití tohoto produktu ani za ně nenese odpovědnost. Totéž platí pro závady produktů či součástí, které nevyrobila společnost MACHEREY-NAGEL, nebo pro škody vzniklé kvůli takovému produktům či součástem jiných výrobců než společnosti MACHEREY-NAGEL. Společnost MACHEREY-NAGEL neposkytuje žádné další záruky žádného druhu a SPECIFICKY VYLUČUJE JAKÉKOLI JINÉ ZÁRUKY JAKÉHOKOLI DRUHU, PŘÍMÉ ČI NEPŘÍMÉ, VYŘČENÉ

ČI NAZNAČENÉ, VČETNĚ ZÁRUK VHODNOSTI, REPRODUKTIVITY, ODOLNOSTI, VHODNOSTI KE KONKRÉTNÍMU ÚČELU NEBO POUŽITÍ, PRODEJNOSTI, STAVU NEBO JAKÉKOLI JINÉ ZÁLEŽITOSTI TÝKAJÍCÍ SE PRODUKTŮ SPOLEČNOSTI MACHEREY-NAGEL. Společnost MACHEREY-NAGEL není v žádném případě povinná poskytovat náhrady za jakékoli jiné škody, přímé či nepřímé, vedlejší, kompenzační, předvídatelné, následné nebo zvláštní (včetně ztráty použitelnosti, výnosu či zisku), ať už se zakládá na záruce, kontraktu, deliktu (včetně zanedbání), nebo čisté odpovědnosti vyplývající ze spojení s prodejem produktů společnosti MACHEREY-NAGEL nebo jejich neschopnosti fungovat v souladu s uvedenými specifikacemi. Tato záruka je exkluzivní a společnost MACHEREY-NAGEL neposkytuje žádné další záruky, vyřčené nebo naznačené. Zde uvedená záruka a data, specifikace a popis tohoto produktu společnosti MACHEREY-NAGEL uvedené v publikovaných katalogích společnosti MACHEREY-NAGEL a dokumentaci příslušných produktů jsou výhradními dokumenty společnosti MACHEREY-NAGEL, které se vztahují k tomuto produktu a jeho záruce. Žádné další výroky, písemné či ústní, od zaměstnanců, agentů nebo zástupců společnosti MACHEREY-NAGEL, kromě písemných vyjádření podepsaných řádně autorizovaným zástupcem společnosti MACHEREY-NAGEL, nejsou platné. Zákazníci se na ně nesmí spoléhat a nejsou součástí prodejní smlouvy nebo této záruky.

Informace o produktech se mohou měnit. Proto se obraťte na tým technického servisu a požádejte o nejaktuálnější informace o produktech společnosti MACHEREY-NAGEL. Chcete-li získat obecné vědecké informace, můžete kontaktovat také svého místního distributora. Aplikace uvedené v dokumentech společnosti MACHEREY-NAGEL slouží pouze pro informační účely. Společnost MACHEREY-NAGEL nezaručuje, že veškeré aplikace byly testovány v laboratořích společnosti MACHEREY-NAGEL pomocí produktů společnosti MACHEREY-NAGEL. Společnost MACHEREY-NAGEL nezaručuje správnost žádné z těchto aplikací.

Poslední aktualizace: Duben 2022 / Rev. 07

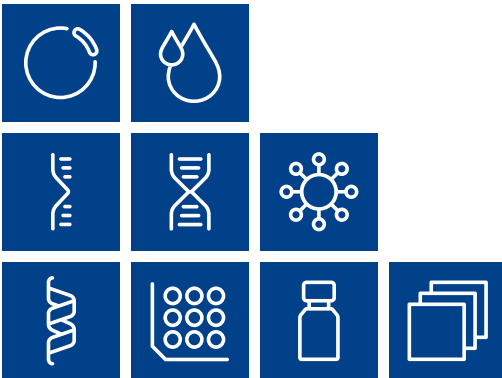
Důvod revize:

Přidání dat o analytické a klinické funkci do kapitoly 2.5. Reference pro nové jazyky uživatelské příručky (kapitola 1.3).

Ochranné známky:

LightCycler je registrovaná ochranná známka společnosti Roche Group.
NucleoSpin® je ochranná známka společnosti MACHEREY-NAGEL GmbH & Co KG.

Všechny použité názvy a označení mohou být značkami, ochrannými známkami nebo registrovanými označeními svých konkrétních vlastníků – i v případě, že se nejedná o žádné specifické označení. Zmínění produktů a značek má pouze informativní charakter (nejedná se o porušení ochrany ochranné známky a značky a nelze ho považovat za doporučení nebo hodnocení). U těchto produktů nebo služeb nemůžeme poskytnout žádné garance ohledně vý-
běru, účinnosti nebo funkce.



Plasmid DNA

Clean up

RNA

DNA

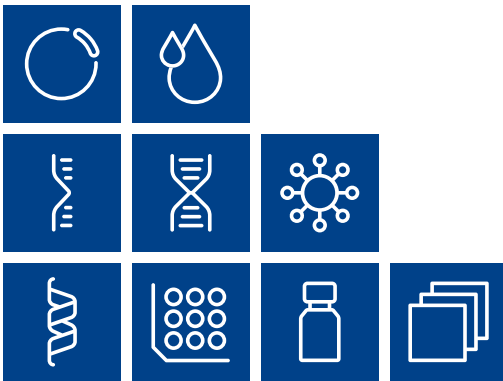
Viral RNA and DNA

Protein

High throughput

Accessories

Auxiliary tools



www.mn-net.com

MACHEREY-NAGEL



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienner Str. 11 · 52355 Düren · Germany

DE +49 24 21 969-0 info@mn-net.com

CH +41 62 388 55 00 sales-ch@mn-net.com

FR +33 388 68 22 68 sales-fr@mn-net.com

US +1 888 321 62 24 sales-us@mn-net.com