



Lietotāja rokasgrāmata

Amicon® Ultra-4 10K centrifugālās filtra ierīces

tilpumiem līdz 4 ml

UFC801008

UFC801024

UFC801096



CE Diagnostiskai lietošanai in vitro

Latviski

Ievads

Amicon® Ultra-4 10K centrifugālās filtra ierīces nodrošina ātru ultrafiltrāciju, augstu koncentrācijas faktorus un vienkāršu koncentrāta uztveršanu no šķīdumiem un kompleksām parauga matricām. Vertikālā konstrukcija un membrānas virsmas laukums nodrošina ātru parauga apstrādi, augstu parauga uztvērumu (parasti augstāku par 90% sākuma atšķaidītā šķīduma) un 80 kārtīgu koncentrāciju. Standarta apstrādes laiks ir 10–20 minūtes. Vertikālā konstrukcija samazina izšķīdušās vielas polarizācijas risku un sekojošo membrānas sabojāšanos, bet fizikālais atduris filtra ierīcē novērš koncentrēšanos līdz sausumam un parauga zaudēšanu. Koncentrātu savāc no filtra ierīces parauga rezervuāra ar pipetori, bet ultrafiltrātu savāc komplektā iekļautajā centrifūga mēģenē. Ierīci var centrifugēt piekares (efektīvai veikspējai) vai leņķa centrifūgas rotoros. Amicon® Ultra-4 10K ierīces piegādā nesterilas, un tās ir paredzētas tikai vienreizējai lietošanai.

Paredzētais lietojums

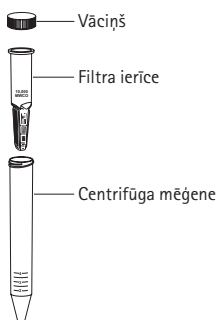
Amicon® Ultra-4 izstrādājumu sērijā ir piecas dažādas robežvērtības (nominālā molekulasmasas robežvērtība (NMMR)), tomēr ierīce Amicon® Ultra-4 10K (10 000 NMMR) ir vienīgā ierīce, kas paredzēta lietošanai in vitro diagnostikai. Šo ierīci var izmantot, lai pirms analīzes veikšanas koncentrētu serumu, urīnu, cerebrospinālo šķidrumu un citus ķermeņa šķidrumus. Papildinformāciju par citām Amicon® Ultra-4 robežvērtībām skatiet tīmekļa vietnē www.millipore.com, meklēšanas lodziņā ievadot *Amicon Ultra-4*.

Izmantojums

- Bioloģisko paraugu, kas iekļauj antigēnus, antivielas, enzīmus, nukleīnskābes (DNS/RNS paraugus gan vienkārši, gan divkārši savītus), mikroorganismus, kolonnas eluātus un attīrītus paraugus, koncentrēšana.
- Audu kultūras ekstraktors un šūnu lizātos esošo makromolekulāro komponentu attīrīšana, piemēram, saistītāja vai molekulāro identifikatoru aizvākšana no reakcijas maisījuma un proteīnu aizvākšana pirms HPLC.
- Atsāļošana, bufera šķīduma maiņa vai diafiltrācija

Komplektā iekļautie piederumi

Amicon® Ultra-4 10K ierīce ar vāciņu, filtra ierīci un centrifūga mēģini.



Nepieciešamais aprīkojums

- Centrifūga ar piekares (ieteicams) vai leņķa rotoru ar bedrītēm/ligzdām, kas ir piemērotas 17 mm x 124 mm 15 ml koniskās apakšas mēģenēm

UZMANĪBU! Lai centrifugēšanas laikā ierīci nesabojātu, pārbaudiet, vai ir ievērota centrifugēšanai neieciešamā atstarpe.

- Pipetors ar 200 mikrolitru (μl) uzgali koncentrāta uztveršanai

Piemērotība

Lai nodrošinātu piemērotību paredzētajai izmantošanai, ieteicams veikt sākotnējās uztveršanas un aiztures pētījumus. Skatīt "Kā kvantificēt uztverumus" sadaļu.

Glabāšanas termiņš

Glabāšanas termiņš ir trīs gadi, skaitot no izgatavošanas brīža. Derīguma termiņu skatīt uz iepakojuma.

Skalošana pirms lietošanas

Amicon® Ultra-4 10K ierīču ultrafiltrācijas membrānās ir nedaudz glicerīna. Ja šī viela traucē analīzei, pirms lietošanas skalojiet ierīci ar buferšķīdumu vai Milli-Q® ūdeni. Ja traucējumi saglabājas, skalojiet ar 0,1 N NaOH un pēc tam ar buferšķīdumu vai Milli-Q® ūdeni.

UZMANĪBU! Ja Amicon® ultrafiltrācijas membrāna ir samitrināta, tā nedrīkst izžūt. Ja ierīci nav paredzēts lietot uzreiz pēc skalošanas, atstājiet uz membrānas nedaudz šķidruma.

Amicon® Ultra-4 centrifugālo filtra ierīču lietošanas norādes

1. Ievadiet Amicon® Ultra ultrafiltrācijas ierīcē 4 ml parauga (3,5 ml 23° leņķa rotora gadījumā).
2. Aiztaisiet vāciņu un ievietojiet filtra ierīci centrifūga rotorā (ieteicams izmantot piekares rotoru). Līdzsvarojiet ar līdzīgām ierīcēm.
3. **Ja lietojat piekares rotoru**, centrifugējiet pie ne vairāk kā 4000 × g apmēram 10–20 minūtes.

Ja lietojat leņķa rotoru, novietojiet ierīci ar membrānas paneli augšup un centrifugējiet ne vairāk kā 7500 × g ne ilgāk kā apmēram 10–20 minūtes.

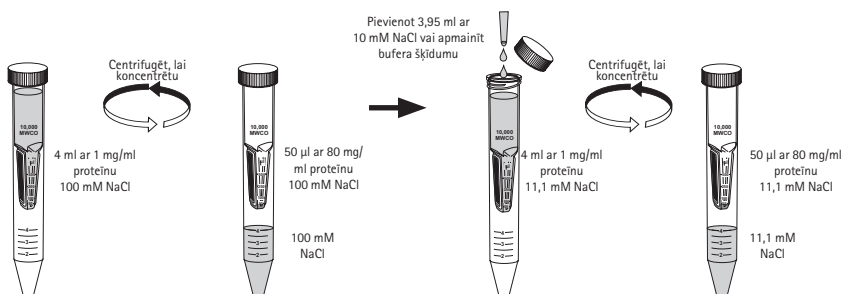
PIEZĪME: Standarta centrifugēšanas laiku skatiet 1. attēlā, kā arī 1. tabulā.

4. Lai pilnībā uztvertu visu koncentrēto izšķīdušo vielu, ievietojiet pipetoru līdz filtra ierīces pamatnei un, viegli šūpojot ierīci no sāna uz sānu, izņemiet paraugu. Ultrafiltrātu drīkst glabāt centrifūgas mēģenē.

PIEZĪME: Vislabākajam uztvērumam izņemiet koncentrēto paraugu uzreiz pēc centrifugēšanas.

Atsāļošana vai diafiltrācija

Atsāļošana, bufera šķīduma maiņa vai diafiltrācija ir svarīgas metodes, kā šķīdumus ar biomolekulām likvidēt sāļus vai šķīdinātājus. Lai Amicon® Ultra-4 ierīcēs veiktu sāļu likvidēšanu vai bufera šķīdumu maiņu, koncentrējiet paraugu, atjaunojiet koncentrātu līdz sākotnējam parauga tilpumam ar jebkuru šķīdinātāju. "Skalošanas" procedūru drīkst turpināt tikmēr, kamēr nevēlamās mikrovielas koncentrācija ir pietiekami samazināta. Skatīt turpmāk aprakstīto piemēru.

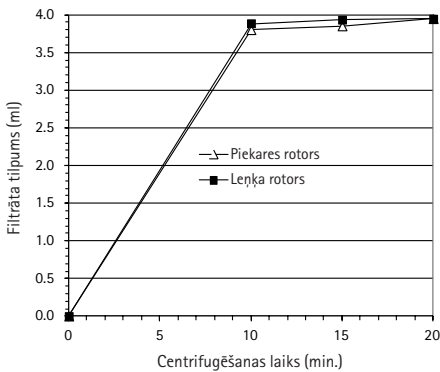


Darbība

Plūsmas ātrums

Faktori, kas ietekmē plūsmas ātrumu, iekļauj parauga koncentrāciju, sākuma tilpumu, izšķīdušās vielas ķīmiskās īpatnības, relatīvo centrālās spēku, centrifūgas rotora leņķi, membrānas tipu un temperatūru. 1. attēlu un 1. tabulu var izmantot, lai noteiktu laiku, kas nepieciešams filtrāta vai koncentrāta vajadzīgā tilpuma sasniegšanai. Standarta centrifugēšanas laiks 4 ml paraugam ir apmēram 10 līdz 20 minūtes. Lai gan vairums paraugu filtrējas centrifugēšanas pirmajās 10 līdz 15 minūtēs, zemāks koncentrāta tilpums (30–75 µl) tiek sasniegts pēc 15 līdz 20 minūšu centrifugēšanas.

1. attēls. Standarta filtrāta tilpums un centrifugēšanas laiks



Centrifugēšanas nosacījumi: piekāres rotors, 4000 × g, vai leņķa rotors, 7500 × g, istabas temperatūra, sākuma tilpums 4 ml. Izmantotais proteīna marķieris: citohroms c, n = 6.

1. tabula. Standarta koncentrāta tilpums un centrifugēšanas laiks

Centrifugēšanas laiks (min.)	Koncentrāta tilpums (µl)	
	Piekāres rotors 4000 × g	35° leņķa rotors 7500 × g
10	176	97
15	76	54
20	58	35

Centrifugēšanas nosacījumi: istabas temperatūra, sākuma tilpums 4 ml. Izmantotais proteīna marķieris: citohroms c, n = 6 (triju membrānu partiju vidējā vērtība). Proteīnu uztvēruma aprēķināšanai 3. tabulā tika izmantoti ieēnotie apjomi.

Proteīna aizturēšana un koncentrāta uztvērums

Amicon® ultrafiltrācijas ierīcēs izmantotās membrānas raksturo nominālās molekulas robežvērtība (MWCO), proti, spēja aizturēt noteiktu molekulas pārsniedzošās molekulas. Izšķīdušās vielas, kuru molekulas ir tuvu MWCO, var tikt aizturētas tikai daļēji. Membrānas aizture ir atkarīga no izšķīdušās vielas molekulu lieluma un formas. Lielākajā daļā gadījumu molekulas ir ērts parametrs aiztures īpatnību novērtēšanai. Lai iegūtu vislabākos rezultātus, izmantojiet membrānu ar MWCO, kas ir vismaz divas reizes mazāka par koncentrējamā proteīna šķīduma vielas molekulas. Skatīt 2. tabulu.

2. tabula. Proteīna marķieru standarta aizture

Marķieris/koncentrācija	Molekulmasa	Ierīces MWCO	% aizture, piekare	% aizture, leņķis	Centrifugēšanas laiks (min.)
α-himotripsinogēns (1 mg/ml)	25 000	10K	> 95	> 95	15
Citohroms c, (0,25 mg/ml)	12 400		> 95	> 95	15
Vitamīns B-12 (0,2 mg/ml)	1350		< 15	< 15	15

Centrifugēšanas nosacījumi: piekares rotors, 4000 × g, vai 35° leņķa rotors, 7500 × g, sākuma tilpums 4 ml, istabas temperatūra, n = 6 (triju membrānu partiju vidējā vērtība).

Faktori, kas nosaka parauga uztvērums iekļauj proteīna izšķīdušās vielas īpatnības attiecībā pret ierīces MWCO, sākuma koncentrāciju un koncentrācijas faktoru. 3. tabula iekļauj Amicon® Ultra-4 10K ierīču standarta uztvērums.

3. tabula. Standarta koncentrāta uztvērums

Marķieris/ koncentrācija	Ierīces MWCO	Centrifugēšanas laiks (min.)	Koncentrāta tilpums (μl)		Koncentrācijas faktors (x)		Koncentrāta uztvērums (%)	
			Piekare	Leņķis	Piekare	Leņķis	Piekare	Leņķis
Citohroms c, (0,25 mg/ml)	10K	15	76	54	52,3	76,6	97,3	98,5

Centrifugēšanas nosacījumi: piekares rotors, 4000 × g, vai 35° leņķa rotors, 7500 × g, sākuma tilpums 4 ml, istabas temperatūra, n = 6 (triju membrānu partiju vidējā vērtība). Izmantoti 1. tabulā norādītie ieeņotie apjomi.

Maksimāla parauga uztvērums nodrošināšana

Zemu parauga uztvērums var izraisīt adsorbcijas zudumi, pārmērīga koncentrācija vai parauga izkļūšana caur membrānu.

- Adsorbcijas zudumi ir atkarīgi no izšķīdušās vielas koncentrācijas, tās hidrofobijām īpatnībām, temperatūras un kontakta ar filtra ierīces virsmām laika, parauga sastāva un pH. Lai mazinātu zudumus, koncentrētos paraugus ieteicams izņemt uzreiz pēc centrifugēšanas.
- Ja sākuma parauga koncentrācija ir augsta, lai novērstu parauga pārmērīgu koncentrāciju, uzraugiet centrifugēšanu. Pārmērīga koncentrācija var izraisīt izgulsnešanos un parauga zaudēšanu.
- Ja paraugs izkļūst caur membrānu, izvēlieties Amicon® Ultra-4 ierīci ar zemāku MWCO.

Uztvertā daudzuma kvantifikācijas norādes

Turpmāk aprakstītā metode ļauj aprēķināt kopējo uztvērumu, koncentrāta uztvēruma procentuālo attiecību un filtrāta uztvēruma procentuālo attiecību. Procedūra ļauj noteikt aptuvenu uztvertā daudzuma vērtību šķīdumiem ar koncentrāciju līdz apmēram 20 mg/ml.

PIEZĪME: atbilstošās analīzes metodes iekļauj absorbcijas spektrofotometriju, radioimūnanalīzi, refrakcijas rādītāju un vadītspēju.

Tiešā svēršana

Vairumam atšķaidīto proteīnu blīvums ir gandrīz tāds pats kā ūdenim (proti, 1 g/ml). Ievērojot šo īpašību, lai kvantificētu koncentrāta un filtrāta tilpumus, tie ir jānosver, bet mērvienības no gramiem jānomaina uz mililitriem. Šī metode ir derīga tikai šķīdumiem, kuru koncentrācija ir apmēram 20 mg/ml vai mazāka.

1. Pirms lietošanas nosveriet tukšo filtra ierīci, centrifūga mēģeni un tukšo koncentrāta mēģeni.
2. Uzpildiet ierīci ar šķīdumu un nosveriet.
3. Samontējiet ierīci un centrifūgu saskaņā ar instrukcijām.
4. Savāciet koncentrātu ar pipetoru un iepildiet iepriekš nosvērtā koncentrāta mēģenē.
5. Izņemiet ierīci no centrifūga mēģenes un nosveriet centrifūga mēģeni un koncentrāta mēģeni.
6. Lai aprēķinātu sākuma vielas, filtrāta un koncentrāta svaru, atņemiet tukšās ierīces/mēģenes svaru.
7. Lai noteiktu izšķīdušās vielas koncentrāciju, analizējiet sākuma materiālu, filtrātu un koncentrātu.
8. Aprēķiniet uztverto daudzumu, izmantojot svara/tilpuma datus un koncentrāciju mērījumu, saskaņā ar turpmāk minēto formulu:

$$\% \text{ koncentrāta uztvērums} = 100 \times \frac{W_c \times C_c}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ filtrāta uztvērums} = 100 \times \frac{W_f \times C_f}{W_o \times C_o}$$

$$\% \text{ kopējais uztvērums} = \% \text{ koncentrāta uztvērums} + \% \text{ filtrāta uztvērums}$$

W_c = kopējais koncentrāta svars pirms analīzes

W_o = oriģinālās sākuma vielas svars

W_f = filtrāta svars

C_c = koncentrāta koncentrācija

C_o = oriģinālās sākuma vielas koncentrācija

C_f = filtrāta koncentrācija

Specifikācijas

Maksimālais sākuma parauga tilpums

Piekares un leņķa rotorī (45° un 35°) 4,0 ml

Leņķa rotorī (23°) 3,5 ml

Standarta gala koncentrāta tilpums

50–100 µl

Maksimālais relatīvais centrālās spēks

Piekares rotors 4000 × g

Leņķa rotors 7500 × g

Aktīvais membrānas laukums

3 cm²

Izmēri

Filtra ierīce mēģenē (ar vāciņu)

Garums: 124 mm

Diametrs: 17,3 mm

Filtra ierīce

Garums: 73,4 mm

Diametrs: 17,2 mm

Materiālu sastāvs

Filtra ierīce Kopolimēra stīrēns/butadiēns

Membrāna Ultracel® zemas piesaistes reģenerētā celuloze

Filtrāta mēģene Polipropilēns

Filtrāta vāciņš un ieliktnis Polietilēns

Ķīmiskā saderība

Amicon® Ultra centrifugēšanas ierīces ir paredzēts lietot ar bioloģiskajiem šķīdumiem un udeņainiem šķīdumiem. Pirms lietošanas pārbaudiet, vai paraugs ir ķīmiski saderīgs ar ierīci.

4. tabula. Amicon® Ultra ultrafiltrācijas ierīcēm piemērotās ķīmiskās vielas

Skābes	Koncentrācija		Koncentrācija
Etīlskābe	≤ 50%*	Skudrskābe	≤ 5%*
Fosforskābe	≤ 30%	Slāpekļskābe	≤ 10%
Pienskābe	≤ 50%	Sulfamīnskābe	≤ 3%
Sāļsskābe	≤ 1,0 M	Trifluoretiķskābe (TFA)	≤ 30%*
Sērskābe	≤ 3%	Trihloretiķskābe (TCA)	≤ 10%*

Sārmī

Amonija hidroksīds	≤ 10%	Nātrija hidroksīds	≤ 0,5 M
--------------------	-------	--------------------	---------

Spirti

n-butanols	≤ 70%	Izopropanols	≤ 70%
Etanols	≤ 70%	Metanols	≤ 60%

Deterģenti

Alconox® deterģents	≤ 1%	Nonidet™ P-40 virsmaktīvā viela	≤ 2%
CHAPS deterģents	≤ 0,1%	Tergazyme® deterģents	≤ 1%
Lubrol® PX deterģents	≤ 0,1%	Triton® X-100 virsmaktīvā viela	≤ 0,1%
Nātrija deoksiholāts	≤ 5%	Tween® 20 virsmaktīvā viela	≤ 0,1%
Nātrija dodecilsulfāts (SDS)	≤ 0,1%		

Organiskie šķīdinātāji

Acetonitrils	≤ 20%	Hloroforms	nav ieteicams
Acetons	nav ieteicams	Oglekļa tetrahlorīds	nav ieteicams
Benzols	nav ieteicams	Piridīns	nav ieteicams
Dimetilsulfoksīds (DMSO)	≤ 5%*	Tetrahidrofurāns	nav ieteicams
Etilacetāts	nav ieteicams	Toluols	nav ieteicams
Formaldehīds	≤ 5%		

Dažādi

Amonija sulfāts	Piesātināts	Imidazols	≤ 100 mM
Dietilpirokarbonāts	≤ 0,2%	Merkaptoetanolis	≤ 0,1 M
Ditiotreitolis (DDT)	≤ 0,1 M	Nātrija karbonāts	≤ 20%
Fenols	≤ 1%	Polietilēns glikols	≤ 10%
Fosfāta buferis (pH 8,2)	≤ 1 M	Tris buferis (pH 8,2)	≤ 1 M
Glicerīns	≤ 70%	Urīnviela	≤ 8 M
Guanidīna hidrohlorīds	≤ 6 M		

* Kontakts ar šīm ķīmiskajām vielām var izraisīt vielu noplūdi no komponenta detaļām. Lai noteiktu, vai izskalošana var potenciāli ietekmēt analīzi, ieteicams izmantot šķīdinātāju tvertnes.

Izstrādājumu marķēšanas apzīmējumi

Tabulā ir paskaidroti uz Amicon® Ultra-4 10K ierīces redzami apzīmējumi.

Apzīmējums	Skaidrojums	Apzīmējums	Skaidrojums
	In vitro diagnostikas medicīniskā ierīce		Ražošanas datums
	Kataloga numurs		Ražotājs
	Nelietot atkārtoti		Izstrādājums nav sterilizēts
	Derīguma termiņš		CE atbilstības marķējums
	Sērijas kods		

Izstrādājumu pasūtīšanas informācija

Šajā sadaļā ir norādīti Amicon® Ultra ultrafiltrācijas ierīču kataloga numuri. Kontaktinformāciju skatiet tehniskā atbalsta sadaļā. Izstrādājumus var iegādāties tiešsaistē: www.millipore.com/products.

Sākuma tilpums (ml)	Gala koncentrāta tilpums (µl)	Izstrādājums	Daudzums	3K	10K	30K	50K	100K
0,5	15–20	Amicon® Ultra-0,5 ierīce	8	UFC500308	UFC501008	UFC503008	UFC505008	UFC510008
			24	UFC500324	UFC501024	UFC503024	UFC505024	UFC510024
			96	UFC500396	UFC501096	UFC503096	UFC505096	UFC510096
			500	UFC5003BK	UFC5010BK	UFC5030BK	UFC5050BK	UFC5100BK
Amicon® Ultra-0,5 savākšanas mēģenes			96	UFC50VL96				
2	30–70	Amicon® Ultra-2 ierīce	24	UFC200324	UFC201024	UFC203024	UFC205024	UFC210024
4	50–100	Amicon® Ultra-4 ierīce	8	UFC800308	UFC801008*	UFC803008	UFC805008	UFC810008
			24	UFC800324	UFC801024*	UFC803024	UFC805024	UFC810024
			96	UFC800396	UFC801096*	UFC803096	UFC805096	UFC810096
15	150–300	Amicon® Ultra-15 ierīce	8	UFC900308	UFC901008*	UFC903008	UFC905008	UFC910008
			24	UFC900324	UFC901024*	UFC903024	UFC905024	UFC910024
			96	UFC900396	UFC901096*	UFC903096	UFC905096	UFC910096

* Amicon® Ultra-4 un Ultra-15 10K ierīces ir paredzētas in vitro diagnostikai. Visas citas ierīces ir paredzētas tikai pētniecībai.

Piezīme

Šajā dokumentā iekļautā informācija var tikt mainīta bez brīdinājuma un nav uzskatāma par saistošu „Merck Millipore Ltd.” („Millipore”) vai tā filiālei. Ne „Merck Millipore Ltd.”, ne tās filiāles neuzņemas atbildību par kļūdām, kas varētu būt šajā dokumentā.

Tehniskā palīdzība

Lai iegūtu papildu informāciju, sazinieties ar tuvāko biroju. Atjaunināta globālā kontaktinformācija ir pieejama mūsu vietnē www.millipore.com/offices. Varat arī apmeklēt tehniskās palīdzības lapu mūsu vietnē www.millipore.com/techservice.

Standarta garantija

Šajā publikācijā minētajiem izstrādājumiem piemērojamā garantija ir pieejama vietnē www.millipore.com/terms (sadaļā „Terms and Conditions of Sale” [„Tirdzniecības noteikumi un nosacījumi”]), kas attiecas uz jūsu pirkuma transakciju).



Ražots Īrijā
Merck Millipore Ltd.
Tullagreen,
Carrigtwohill,
Co. Cork, IRL



M logotips, Millipore, Amicon, Milli-Q un Ultracel ir Merck KGaA, Darmštate (Darmstadt) (Vācija), reģistrēta prečzīme. Visas trešo pušu reģistrētās prečzīmes pieder attiecīgajiem īpašniekiem.

© 2014 EMD Millipore Corporation. Billerica, MA, U.S.A. Visas tiesības aizsargātas.

PR04316TR, pārs. B, Latviski, 07/14