



Kesäkuu 2022

QIASymphony® DSP DNA Midi Kit -sarjan käyttöohje (protokolla-arkki)

DNA_Buffy_Coat_400_V6 DSP -protokolla

Versio 2

IVD

In vitro -diagnostiikkaan

Käytettäväksi QIASymphony DSP DNA Midi Kit -sarjan kanssa (96)

CE

REF

937255



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Saksa

R1

Protokolla-arkki on saatavilla sähköisesti tuotesivun lisämateriaalivälilehdestä osoitteessa www.qiagen.com.

Yleistä

QIAsymphony DSP DNA Kit -tarvikesarja on tarkoitettu in vitro -diagnostiikkaan.

Tämä on protokolla koko genomisen ja mitokondriaalisen DNA:n puhdistukseen tuoreesta tai jäätyneestä ihmisen kokoverestä QIAsymphony SP:n ja QIAsymphony DSP DNA Midi Kit -tarvikesarjan avulla.

Sarja	QIAsymphony DSP DNA Midi Kit -sarja (tuotenro 937255)
Näyttemateriaali	Buffy coat (antikoagulanttina EDTA, sitraatti tai hepariini)
Protokollan nimi	DNA_BC_400_V6_DSP
Määrittelyn kontrollin oletusasetus	ACS_BC_400_V6_DSP
Muokattavuus	Eluutiolavuus: 200 ja 400 µl
Tarvittava ohjelmistoversio	Versio 4.0 tai uudempi
IVD-käyttöön tarvittu ohjelmistokokoonpano	Oletusprofiili 1

Sample (Näyte) -lokero

Näytetyyppi	Ihmisen kokoveri (antikoagulanttina EDTA, sitraatti tai hepariini)
Näyttemäärä	Määräytyy käytettävän näyteputkityypin mukaan. Katso lisätietoja laboratoriotarviteluettelosta, joka on saatavilla tuotesivun materiaalivälilehdestä osoitteessa www.qiagen.com .
Ensisijaiset näyteputket	–
Toissijaiset näyteputket	Katso lisätietoja laboratoriotarviteluettelosta, joka on saatavilla tuotesivun materiaalivälilehdestä osoitteessa www.qiagen.com .
Asettimet	Määräytyy käytettävän näyteputkityypin mukaan. Katso lisätietoja laboratoriotarviteluettelosta, joka on saatavilla tuotesivun materiaalivälilehdestä osoitteessa www.qiagen.com .

n/a = ei olennainen.

Reagents and Consumables (Reagenssit ja kulutustarvikkeet) -lokero

Sijainti A1 ja/tai A2	Reagenssikasetti (RC)
Asento B1	–
Kärkitelineen pidike 1–17	Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 tai 1 500 µl
Yksikkölaatikon pidike 1–4	Yksikkölaatikot sisältävät Sample Prep Cartridge -kasetit tai 8-Rod Covers -kannet

n/a = ei olennainen.

Waste (Jäte) -lokero

Yksikkölaatikon pidike 1–4	Tyhjät yksikkölaatikot
Jätepussin pidike	Jätepussi
Nestejätepullon pidike	Tyhjä nestejätepullo

Eluate (Eluaatti) -lokero

Eluutioline (suositus: aukko 1, jäähdytyspaikka)

Katso lisätietoja laboriorotarvikeluettelosta, joka on saatavilla tuotesivun materiaaliivälilehdestä osoitteessa www.qiagen.com.

Vaaditut muoviasiat

Muoviasiat	Yksi erä 24 näytettä*	Kaksi erää 48 näytettä*	Kolme erää 72 näytettä*	Neljä erää 96 näytettä*
Disposable filter-tips, 200 µl†	4	4	4	8
Disposable filter-tips, 1500 µl†	110	212	314	424
Sample prep cartridges§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Jos erässä käytetään alle 24 näytettä, ajossa tarvitaan vähemmän kertakäyttöisiä suodatinkärkiä.

† Kärkitelineessä on 32 suodatinkärkeä.

‡ Tarvittavien filter-tip-suodatinkärkien määrä käsittää suodatinkärjet yhteen skannaukseen reagenssikasettia kohti.

§ Yksikkölaatikossa on 28 näytteenvalmistelukasettia.

¶ Yksikkölaatikossa on 12 kpl 8-Rod Covers -kansia.

Huomautus: Mainittu suodatinkärkien määrä voi poiketa kosketusnäytössä näkyvästä luvusta asetuksista riippuen. Suosittelemme lataamaan suurimman mahdollisen määrän kärkiä.

Eluutiilavuus

Eluutiilavuus valitaan kosketusnäytöstä. Eluaattitulavuus voi vaihdella näytetyypin ja DNA-sisällön mukaan korkeintaan 15 µl valittua tilavuutta pienemmäksi. Koska eluaattitulavuus voi vaihdella, suosittelemme tarkistamaan todellisen eluaattitulavuuden, kun käytetään automaattista määrityksen asetusjärjestelmää, joka ei tarkista eluaattitulavuutta ennen siirtoa. Pienillä tilavuuksilla tehty elutio suurentaa lopullisen DNA:n pitoisuutta mutta samalla pienentää tuottoa hieman. Suosittelemme käyttämään aiottuun seuraavaan käyttösovellukseen sopivaa eluutiilavuutta.

Näytemateriaalin valmistelu

Työskennellessä kemikaalien kanssa on aina käytettävä asianmukaista laboratoriotakkia, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoja on tuotekohtaisissa käyttöturviedotteissa (Safety Data Sheets, SDS), joita saa tuotteen toimittajalta.

Yleisiä suosituksia näytteiden ottamisesta, kuljettamisesta ja säilyttämisestä on CLSI:n hyväksytyssä ohjeessa MM13-A Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods. Lisäksi valmistajan ohjeita valitun näytteenottovälineen käyttämisestä on noudatettava näytteen valmistelussa, säilytyksessä, kuljetuksessa ja yleisessä käsittelyssä.

Buffy coat

Buffy coat on kokoveren leukosyyttirikastettu osuus. Leukosyyttirikastamisen teho on buffy coat -kerroksen valmistelutavan ja uuttamistavan tarkkuuden mukainen. Valmistele buffy coat käyttämällä vakiokäytännön mukaista antikoagulanttia (EDTA, sitraatti tai hepariini) sisältäviä kokoverinäytteitä sentrifugissa nopeudella 900 – 1 100 x g 10 minuutin ajan huoneenlämmössä (15–25 °C). Sentrifugoinnin jälkeen näytteessä näkyy kolme erillistä osaa: ylin, kirkas kerros on plasmaa, keskimmäinen kerros on buffy coat, joka sisältää tiivistettyjä leukosyyttejä, ja alin kerros sisältää tiivistettyjä punasoluja. Noin 1 ml leukosyyttejä sisältävästä osiosta pitää kerätä noin 10 ml:sta sentrifugissa käytettyä kokoverta, jolloin tavallisesti saadaan 5–6-kertainen rikastus. Esimerkiksi 10 ml:ssa kokoverta, jonka valkosoluluku on 6×10^6 solua/ml, saadaan 1 ml buffy coat -kerrosta. Jos valkosolujen rikastus oletetaan viisinkertaiseksi, tuloksena on 3×10^7 solua/ml. Näin ollen protokollassa, jossa käytetään 400 µl:n buffy coat -kerrosta, käytetään, $1,2 \times 10^7$ solua.

Jotta DNA-puhdistustoimenpide ei kuormittuisi liikaa, älä valmistele yli kymmenkertaisesti rikastettuja buffy coat -näytteitä. Jos buffy coat -näytteissä on yli kymmenkertainen rikastus, laimenna näytteitä kymmenkertaiseen tai laimeampaan rikastukseen PBS:n avulla tai käytä DNA-puhdistustoimenpiteessä vähemmän aloitusmateriaalia.

Buffy coat -näytteitä voidaan käyttää heti tai ne voidaan säilyttää –20 °C:ssa tai –80 °C:ssa myöhempää DNA:n puhdistusta varten. Pakastetut näytteet on sulatettava nopeasti 37 °C:n vesihauteessa hieman liikutellen, jotta niiden perusteellinen sekoittuminen voidaan varmistaa. Tämän jälkeen näytteet on tasattava huoneenlämpöön (15-25°C) ennen toimenpiteen aloittamista. Varmista luotettava näytteen siirto välttämällä vaahtoutumista näyteputkissa. Pyri välttämään verihyytymien muodostuminen näytteeseen ja siirrä tarvittaessa näytteen hyytymätön osa uuteen putkeen.

Huomautus: Näytteen stabiilius riippuu paljolti erilaisista tekijöistä ja liittyy kyseiseen myöhempään käyttötarkoitukseen. On käyttäjän vastuulla katsoa käyttöohjeista tietoa laboratorioissa käytettävästä kyseisestä myöhemmästä käyttötarkoituksesta ja/tai validoida koko työnkulku sopivien säilytysolosuhteiden määrittämiseksi.

Eluaattien säilytys

On suositeltavaa poistaa eluaattilevy Eluate (Eluaatti) -lokerosta heti ajon päättymisen jälkeen. Eluutiolevyt voidaan jättää QIASymphony SP:hen, jos ajo suoritetaan yön aikana (korkeintaan 12 tuntia ajon kesto mukaan luettuna; suositellut ympäristöolosuhteet: 18–26 °C ja 20-75 %:n suhteellinen kosteus). Lämpötilan ja kosteuden vaikutuksesta eluaatissa saattaa ilmetä kondensaatiota tai haihtumista.

Lyhytkestoisessa säilytyksessä eluaatteja voidaan säilyttää huoneenlämpötilassa enintään kaksi viikkoa. Pitkäkestoisessa säilytyksessä suositeltava säilytyslämpötila on 2–8 °C, –20 °C tai –80 °C. Pakastettuja eluaatteja ei saa sulattaa enemmän kuin kolme kertaa.

Huomautus: Eluaatin vakaus riippuu paljolti erilaisista tekijöistä ja liittyy kyseiseen myöhempään käyttötarkoitukseen. Se on määritetty QIASymphony DSP DNA Midi Kit -sarjoille yhdessä esimerkinomaisten myöhempien käyttötarkoitusten kanssa. On käyttäjän vastuulla katsoa käyttöohjeista tietoa laboratorioissa käytettävästä kyseisestä myöhemmästä käyttötarkoituksesta ja/tai validoida koko työnkulku sopivien säilytysolosuhteiden määrittämiseksi.

Tärkeä huomioitava seikka ennen aloittamista

- QIASymphonyn magneettiset hiukkaset voivat edistää RNA:n puhdistumista, jos sitä on näytteessä. Minimoi RNA:n määrä näytteessä lisäämällä RNAasi A:ta näytteeseen ennen toimenpiteen aloittamista. Valmiin RNasi A -seoksen pitoisuuden on oltava 2 mg/ml.

Rajoitukset ja häiritsevät aineet





Verinäytteet, joissa on suuri triglyseridipitoisuus (> 30 g/l), saattavat aiheuttaa gDNA-tuoton heikkenemistä.

Huomautus: Testaus tehtiin käyttämällä esimerkinomaisia myöhempiä käyttösovelluksia eristettyjen nukleiinihappojen laadun arvioimiseen. Erilaisilla myöhemmillä käyttösovelluksilla voi kuitenkin olla erilaiset vaatimukset puhtauden suhteen (ts. mahdollisesti häiritsevien aineiden puuttuminen) niin, että asianomaisten aineiden tunnistus ja testaus on myös määritettävä osana myöhemmän käyttösovelluksen kehitystä kaikissa työkuluissa, joissa käytetään QIASymphony DSP DNA Midi Kit -sarjoja.

Huomautus: Huomaa, että QIASymphony DSP DNA Midi Kit -sarjan kehityksen aikana ei havaittu indikaatioita, että hepariinilla olisi negatiivinen vaikutus suorituskykyyn. ISO 20186-2:2019(E) kuitenkin toteaa, että näytteenottoputkien hepariini saattaa vaikuttaa eristettyjen nukleiinihappojen puhtauteen ja mahdollinen siirtyminen eluaatteihin voi aiheuttaa inhibiitioita joissakin myöhemmissä käyttösovelluksissa. Siten on käyttäjän vastuulla validoida, onko hepariinilla negatiivinen vaikutus työkulkuun.

Symbolit

Tässä asiakirjassa käytetään seuraavia symboleja. Täydellinen luettelo käyttöohjeissa tai pakkauksessa ja merkinnöissä käytetyistä symboleista on käsikirjassa.

Symboli	Selitys
	Tämä tuote täyttää in vitro -diagnostisia lääkinnällisiä laitteita koskevan eurooppalaisen säännöksen 2017/746 vaatimukset.
	Diagnostinen in vitro -lääkintälaitte
	Tuotenumero
Rn	R tarkoittaa käyttöohjeiden versiota, ja n on versionumero
	Valmistaja

Muutoshistoria

Versio	Kuvaus
R1, heinäkuu 2022	Versio 2, versio 1 <ul style="list-style-type: none"><li data-bbox="619 378 1094 400">• Päivitys versioon 2 IVD-noudatusta varten<li data-bbox="619 417 1145 438">• Rajoitukset ja häiritsevät aineet -kohdan lisäys<li data-bbox="619 455 1007 476">• Eluaattien säilytys -kohdan lisäys<li data-bbox="619 493 874 514">• Symbolit-osan lisäys<li data-bbox="619 532 1134 553">• Näyttemateriaalin valmistelu -kohdan päivitys

Voimassa olevat lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet ovat saatavilla tuotekohtaisista QIAGEN®-sarjojen käyttöoppaista tai käsikirjoista. QIAGEN-sarjojen käsikirjat ja käyttöoppaat ovat saatavilla osoitteesta www.qiagen.com tai niitä voi tiedustella QIAGENin teknisestä palvelusta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

Tavaramerkit: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Tässä asiakirjassa mainittuja rekisteröityjä nimiä, tavaramerkkejä jne. on pidettävä lain suojaamina, vaikkei niitä olisi erityisesti sellaisiksi merkitty. 06/2022 HB-3029-S05-001 © 2022 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.