

Prosinec 2017

List protokolu QIAasymphony[®] SP

Protokol DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP

Tento dokument je list protokolu DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP *QIAasymphony SP*, R3, pro sadu QIAasymphony DSP DNA Mini Kit, verze 1.

Všeobecné informace

Sada QIASymphony DSP DNA je určena pro diagnostické účely in vitro.

Tento protokol je určen pro purifikaci celkové genomové a mitochondriální DNA z čerstvé nebo zmražené tzv. buffy coat (vrstva tvořená trombocyty a leukocyty) lidské plné krve pomocí přístroje QIASymphony SP a sady QIASymphony DSP DNA Midi Kit.

Sada	Sada QIASymphony DSP DNA Midi Kit (kat. č. 937255)
Materiál vzorku	Buffy coat (EDTA, citrát nebo antikoagulovaná heparinem)
Název protokolu	DNA_BC_400_V6_DSP
Výchozí kontrolní sada	ACS_BC_400_V6_DSP
Editovatelný	Eluční objem: 200 µl, 400 µl
Vyžadovaná verze softwaru	Verze 4.0 nebo vyšší

Zásuvka „Sample“ (Vzorek)

Typ vzorku	Buffy coat (EDTA, citrát nebo antikoagulovaná heparinem)
Objem vzorku	Závisí na typu použitých zkumavek na vzorky; více informací získáte na adrese www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Zkumavky primárního vzorku	–
Zkumavky sekundárního vzorku	Další informace naleznete na adrese www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Vložky	Závisí na typu použitých zkumavek na vzorky; více informací získáte na adrese www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

n/a = neuvedeno.

Zásuvka „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotřební materiál)

Poloha A1 a/nebo A2	Zásobník s reagenciemi
Poloha B1	–
Držák se stojánkem pro špičky 1–17	Filtrační špičky k jednorázovému použití 200 µl nebo 1500 µl
Držák jednotkové krabice 1–4	Jednotkové krabice obsahující vzorové preparáty nebo 8tyčové kryty

n/a = neuvedeno.

Zásuvka „Waste“ (Odpad)

Držák jednotkové krabice 1–4	Prázdné jednotkové krabice
Držák odpadních sáčků	Odpadní sáček
Držák nádoby na kapalný odpad	Prázdna lahev na kapalný odpad

Zásuvka „Eluate“ (Eluát)

Eluční stojánek (doporučujeme použít chladicí pozici, slot 1)	Další informace naleznete na adrese www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.
---------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Požadované plastové vybavení

	Jedna šarže, 24 vzorků*	Dvě šarže, 48 vzorků*	Tři šarže, 72 vzorků*	Čtyři šarže, 96 vzorků*
Filtrační špičky k jednorázovému použití, 200 µl ^{††}	4	4	4	8
Filtrační špičky k jednorázovému použití, 1500 µl ^{††}	110	212	314	424
Zásobníky pro přípravu vzorků [§]	18	36	54	72
8tyčové kryty [¶]	3	6	9	12

* Použití méně než 24 vzorků na šarži snižuje počet filtračních špiček k jednorázovému použití požadovaných na jeden běh.

† Jeden stojánek na špičky obsahuje 32 špiček s filtrem.

†† Počet požadovaných filtračních špiček zahrnuje filtrační špičky pro 1 snímek inventáře na kazetu s reagensy.

§ Je zde 28 kazet s preparáty vzorku v jednotkové krabici.

¶ Je zde dvanáct 8tyčových krytů/jednotková krabice.

Poznámka: Udávaný počet filtračních špiček se liší od počtu zobrazenému na dotykové obrazovce v závislosti na nastaveních. Doporučujeme vložit maximální možný počet špiček.

Eluční objem

Eluční objem se vybírá na dotykové obrazovce. V závislosti na typu vzorku a obsahu DNA se může konečný eluční objem změnit až o 15 µl směrem dolů vůči zvolenému objemu. Díky tomu, že se eluční objem může měnit, doporučujeme zkontrolovat aktuální objem eluátu při používání systému automatického nastavení kvantitativní analýzy, který před přenosem neověřuje eluční objem. Eluce při nižších objemech zvyšuje konečnou koncentraci DNA, ale mírně snižuje výtěžek. Doporučujeme používat eluční objem vhodný pro zamýšlenou aplikaci v dalších krocích.

Příprava materiálu vzorků

Při manipulaci s chemikáliemi noste vždy laboratorní oděv, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Další informace si vyhledejte v příslušných bezpečnostních listech (safety data sheets, SDS), které obdržíte od dodavatele výrobku.

Důležitý bod před zahájením

- Magnetické částice QIASymphony mohou společně purifikovat RNA, pokud je ve vzorku přítomna. Pro minimalizaci obsahu RNA ve vzorku přidejte před zahájením postupu do vzorku RNázu A. Konečná koncentrace RNázy A by měla být 2 mg/ml.

Buffy coat

Buffy coat je frakce plné krve obohacená o leukocyty. Účinnost obohacení leukocyty závisí na postupu použitým při přípravě buffy coat a na přesnosti, s jakou je buffy coat extrahována. Buffy coat připravte odstředěním vzorků plné krve obsahujících standardní antikoagulant (EDTA, citrát nebo heparin) centrifuzou při otáčkách 900–1100 x g po dobu 10 minut při pokojové teplotě (15–25 °C). Po odstředění jsou zřetelné 3 různé frakce: horní čirá vrstva je plazma, prostřední vrstva je buffy coat, obsahující koncentrované leukocyty a spodní vrstva obsahuje koncentrované erythrocyty. Z 10 ml odstředěné plné krve by měl být odebrán přibližně 1 ml frakce obsahující leukocyty, což průměrně znamená 5–6x obohacení. Například z 10 ml plné krve s počtem bílých krvinek 6×10^6 krvinek/ml se získá 1 ml buffy coat. Za předpokladu 5x obohacení bílými krvinkami to znamená 3×10^7 krvinek/ml. Proto bude v protokolu, který používá 400 µl buffy coatu, použito $1,2 \times 10^7$ krvinek.

Aby se zamezilo přetížení postupu purifikace DNA, nepřipravujte vzorky buffy coatu s obohacením >10x. Pokud je obohacení vzorků >10x, vzorky rozřeďte na 10x obohacení nebo nižší pomocí PBS nebo v postupu purifikace DNA použijte méně výchozího materiálu.

Vzorky buffy coat lze použít okamžitě nebo se mohou skladovat při teplotě –20 °C nebo –70 °C pro purifikaci DNA později. Zmrazené vzorky je třeba rychle rozmrazit ve vodní lázni o teplotě 37 °C při mírném protřepávání, aby se zajistilo řádné promíchání, a poté se musí před zahájením postupu nechat ustálit na pokojovou teplotu (15–25 °C). K zajištění spolehlivého přenosu vzorku je nutné zabránit vzniku pěny ve zkumavkách vzorků. Ve vzorcích se snažte zabránit vzniku krevních sraženin a v případě potřeby přeneste vzorek bez sraženin do nové zkumavky.

Historie revizí

Historie revizí dokumentu	
R3 12/2017	Aktualizace pro software QIASymphony verze 5.0

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifická pro výrobek jsou uvedeny v příslušné příručce pro sadu QIAGEN® nebo v příručce uživatele. Příručky k sadám QIAGEN a uživatelské příručky jsou k dispozici na stránkách www.qiagen.com nebo si je lze vyžádat od technických služeb společnosti QIAGEN nebo místního distributora.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (skupina QIAGEN). Registrované názvy, ochranné známky atd. použité v tomto dokumentu, a to i v případě, že takto nejsou výslovně označeny, nejsou považovány za zákonem nechráněné.
12/2017 HB-0977-S06-003 © 2017 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

Objednávky www.qiagen.com/shop | Technická podpora support.qiagen.com | Webová stránka www.qiagen.com