

December 2017

List protokolu QIASymphony[®] SP

Protokol DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP

Tento dokument predstavuje *list protokolu QIASymphony SP* pre DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP, R3, pre súpravu QIASymphony DSP DNA Mini Kit, verziu 1.

Všeobecné informácie

Súprava QIASymphony DSP DNA Kit je určená na diagnostické použitie in vitro.

Tento protokol slúži na purifikáciu celkovej genomickej a mitochondriálnej DNA z čerstvej alebo zmrazenej leukocyto-doštičkovej vrstvy pomocou prístroja QIASymphony SP a súpravy QIASymphony DSP DNA Midi Kit.

Súprava	Súprava QIASymphony DSP DNA Midi Kit (katalógové číslo 937255)
Materiál vzorky	Leukocyto-doštičková vrstva (antikoagulovaná EDTA, citrátom, alebo heparínom)
Názov protokolu	DNA_BC_400_V6_DSP
Predvolená kontrolná sada analýzy	ACS_BC_400_V6_DSP
Možno upraviť	Elučný objem: 200 µl, 400 µl
Požadovaná verzia softvéru	Verzia 4.0 alebo vyššia

Zásuvka „Sample“ (Vzorka)

Typ vzorky	Leukocyto-doštičková vrstva (antikoagulovaná EDTA, citrátom, alebo heparínom)
Objem vzorky	Závisí od typu použitých skúmaviek na vzorky. Viac informácií nájdete na stránke www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Primárne skúmavky na vzorky	n/a
Sekundárne skúmavky na vzorky	Ďalšie informácie nájdete na stránke www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Vložky	Závisí od typu použitých skúmaviek na vzorky. Viac informácií nájdete na stránke www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

n/a = neaplikovateľné.

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

Pozícia A1 a/alebo A2	Kazeta reagencie
Pozícia B1	n/a
Držiak stojana na špičky 1–17	Jednorazové filtrovacie špičky, 200 µl alebo 1500 µl
Držiak jednotkovej krabice 1-4	Jednotkové krabice obsahujúce kazety s preparátmi vzoriek alebo 8-tyčové kryty

n/a = neaplikovateľné.

Zásuvka „Waste“ (Odpad)

Držiak jednotkovej krabice 1-4	Prázdne krabice na jednotky
Držiak odpadového vrečka	Odpadové vrečko
Držiak fľaše na tekutý odpad	Prázdna fľaša na tekutý odpad

Zásuvka „Eluate“ (Eluát)

Elučný stojan (odporúčame použiť slot 1, pozíciu chladenia)	Ďalšie informácie nájdete na stránke www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
---	---

Požadované plastové vybavenie

	Jedna dávka, 24 vzoriek*	Dve dávky, 48 vzoriek*	Tri dávky, 72 vzoriek*	Štyri dávky, 96 vzoriek*
Jednorazové filtračné špičky, 200 µl ^{††}	4	4	4	8
Jednorazové filtračné špičky, 1500 µl ^{††}	110	212	314	424
Kazety s preparátmi vzoriek [§]	18	36	54	72
8-tyčové kryty [¶]	3	6	9	12

* Použitie menej ako 24 vzoriek na dávku znižuje počet jednorazových filtračných špičiek potrebných na cyklus.

[†] V stojane na filtračné špičky sa nachádza 32 filtračných špičiek.

[‡] Počet potrebných filtračných špičiek zahŕňa 1 inventárny sken na kazetu s reagentami.

[§] V jednotkovej krabici je 28 kaziet s preparátmi vzoriek.

[¶] V jednotkovej krabici je dvanásť 8-tyčových krytov.

Poznámka: Počty daných filtračných špičiek sa môžu líšiť od počtov zobrazených na dotykovej obrazovke v závislosti od nastavení. Odporúčame vložiť maximálny možný počet špičiek.

Elučný objem

Elučný objem sa volí na dotykovej obrazovke. V závislosti od typu vzorky a obsahu DNA sa môže výsledný objem eluátu líšiť a byť až do 15 µl nižší než zvolený objem. Z dôvodu, že objem eluátu sa môže líšiť, pri použití automatického systému nastavenia analýzy, ktorý neoveruje objem eluátu pred prenosom, odporúčame skontrolovanie skutočného objemu eluátu. Elúcia v nižších objemoch zvyšuje výslednú koncentráciu DNA, ale mierne znižuje výťažok. Odporúčame používať elučný objem vhodný pre zamýšľanú následnú aplikáciu.

Preparácia materiálu vzorky

Počas práce s chemikáliami noste vždy vhodný laboratórny plášť, jednorazové rukavice a ochranné okuliare. Viac informácií nájdete v príslušných kartách bezpečnostných údajov (Safety Data Sheets, SDS) dostupných u dodávateľa produktu.

Dôležitá informácia pred začatím činnosti

- Magnetické častice QIASymphony môžu ko-purifikovať RNA, ak je vo vzorke prítomná. Na minimalizáciu obsahu RNA vo vzorke pridajte pred začatím postupu do vzorky RNázy A. Výsledná koncentrácia RNázy A by mala byť 2 mg/ml.

Leukocyto-doštičková vrstva

Leukocyto-doštičková vrstva je frakcia plnej krvi obohatená leukocyty. Účinnosť obohatenia leukocyty závisí od postupu použitého na prípravu leukocyto-doštičkovej vrstvy a od presnosti, s ktorou je leukocyto-doštičková vrstva extrahovaná. Leukocyto-doštičkovú vrstvu pripravíte centrifugovaním vzoriek plnej krvi, ktoré obsahujú štandardné antikoagulans (EDTA, citrát, alebo heparín) pri 900–1100 x g po dobu 10 minút pri izbovej teplote (15–25°C). Po centrifugácii možno rozlíšiť 3 rozličné frakcie: horná priehľadná vrstva je plazma, stredná vrstva je leukocyto-doštičková vrstva, ktorá obsahuje koncentrované leukocyty, a spodná vrstva obsahuje koncentrované erytrocyty. Z 10 ml centrifugovanej plnej krvi by sa mal získať približne 1 ml frakcie obsahujúcej leukocyty, čo priemerne poskytuje 5–6-násobné obohatenie. Napríklad 10 ml plnej krvi s počtom bielych krviniek 6×10^6 buniek/ml dáva 1 ml leukocyto-doštičkovej vrstvy. Za predpokladu 5-násobného obohatenia bielymi krvinkami to vedie k 3×10^7 buniek/ml. Použite sa teda protokol, ktorý používa 400 µl leukocyto-doštičkovej vrstvy, $1,2 \times 10^7$ buniek.

Aby nedošlo k preťaženiu postupu purifikácie DNA, nepripravujte vzorky leukocyto-doštičkovej vrstvy s obohatením >10x. Ak sú vzorky leukocyto-doštičkovej vrstvy obohatené >10x, nariedte vzorky na obohatenie 10x alebo menej pomocou PBS alebo v postupe purifikácie DNA použite menej východiskového materiálu.

Vzorky leukocyto-doštičkovej vrstvy možno použiť okamžite, alebo ich uchovať pri –20°C alebo –70°C na neskoršiu purifikáciu DNA. Zmrazené vzorky treba pred začatím postupu rýchlo rozmraziť vo vodnom kúpeli s teplotou 37°C, mierne pohybovať na zabezpečenie dôkladného premiešania a potom nechať vyrovnať pri izbovej teplote (15–25°C). Na zabezpečenie spoľahlivého prenosu vzorky dbajte, aby sa v skúmavkách na vzorky netvorila pena. Snažte sa, aby vo vzorkách nedošlo k tvorbe krvných zrazenín a ak je to potrebné, preneste vzorku bez zrazenín do novej skúmavky.

História revízií

História revízií dokumentu	
R3 12/2017	Aktualizácia pre QIASymphony softvérová verzia 5.0

Aktuálne licenčné informácie a právne informácie špecifické pre daný produkt nájdete v sprievodcovi alebo používateľskej príručke k súprave QIAGEN®. Sprievodcov a používateľské príručky k súpravám QIAGEN nájdete na lokalite www.qiagen.com alebo o ne môžete požiadať oddelenie technických služieb spoločnosti QIAGEN alebo svojho miestneho distribútora.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (skupina QIAGEN). Registrované názvy, ochranné známky atď. použité v tomto dokumente sa nesmú považovať za známky nechránené podľa zákona, i keď neboli ako také označené príslušným symbolom.
12/2017 HB-0977-S06-003 © 2017 QIAGEN, všetky práva vyhradené.

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