



Ιούνιος 2022

Οδηγίες χρήσης QIAasymphony® DSP DNA Mini Kit (Φύλλο πρωτοκόλλου)

Πρωτόκολλα Tissue_LC_200_V7_DSP και Tissue_HC_200_V7_DSP

Έκδοση 2



Για in vitro διαγνωστική χρήση

Για χρήση με το QIAasymphony DSP DNA Mini Kit (192)



937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Γερμανία

R1

Το φύλλο πρωτοκόλλου είναι διαθέσιμο ηλεκτρονικά και βρίσκεται στην καρτέλα πόρων της σελίδας του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com.

Γενικές πληροφορίες

Το QIASymphony DSP DNA Kit προορίζεται για in vitro διαγνωστική χρήση.

Αυτά τα πρωτόκολλα αφορούν τον καθαρισμό ολικού DNA από ιστούς μονιμοποιημένους σε φορμόλη και εγκλεισμένους σε παραφίνη (Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) με χρήση του QIASymphony SP και του QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

Ανάλογα με τον τύπο ιστού, συνιστούμε τη χρήση είτε του πρωτοκόλλου χαμηλής περιεκτικότητας (LC) είτε του πρωτοκόλλου υψηλής περιεκτικότητας (HC). Οι ιστοί θα παρέχουν αυξημένες αποδόσεις DNA εάν υποβληθούν σε επεξεργασία με το πρωτόκολλο υψηλής περιεκτικότητας, ενδεχομένως όμως θα χρειαστεί να χρησιμοποιήσετε το πρωτόκολλο χαμηλής περιεκτικότητας εάν απαιτείται υψηλή συγκέντρωση DNA σε συνδυασμό με χαμηλό όγκο έκλουσης (50 µl). Για ιστούς FFPE συνιστούμε τη χρήση του πρωτοκόλλου χαμηλής περιεκτικότητας.

Πρωτόκολλο χαμηλής περιεκτικότητας

Κιτ	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (αρ. κατ. 937236)
Υλικό δείγματος	Ιστός FFPE και ιστός* Σε μία προετοιμασία μπορούν να συνδυαστούν έως και 4 τομές ιστού FFPE, πάχους έως 10 µm έκαστη ή 8 τομές, πάχους έως 5 µm έκαστη και επιφάνεια έως 250 mm ² .
Όνομα πρωτοκόλλου	Tissue_LC_200_V7_DSP
Προκαθορισμένο σετ μαρτύρων προσδιορισμού	ACS_Tissue_LC_200_V7_DSP
Όγκος έκλουσης	50 µl, 100 µl, 200 µl ή 400 µl
Απαιτούμενη έκδοση λογισμικού	Έκδοση 4.0 ή μεταγενέστερη
Απαιτούμενη διαμόρφωση λογισμικού για χρήση IVD	Προεπιλεγμένο προφίλ 1

* Ανατρέξτε στο πρωτόκολλο υψηλής περιεκτικότητας για πληροφορίες σχετικά με τα δείγματα ιστού.

Πρωτόκολλο υψηλής περιεκτικότητας

Κιτ	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (αρ. κατ. 937236)
Υλικό δείγματος	Ιστός Εάν δεν διατίθενται πληροφορίες σχετικά με την αναμενόμενη απόδοση, συνιστούμε να ξεκινήσετε με 25 mg δείγματος. Ανάλογα με την επιτευχθείσα απόδοση μπορείτε να αυξήσετε την ποσότητα του δείγματος στις επόμενες παρασκευές.
Όνομα πρωτοκόλλου	Tissue_HC_200_V7_DSP
Προκαθορισμένο σετ μαρτύρων προσδιορισμού	ACS_TissueHLC_200_V7_DSP
Όγκος έκλουσης	50, 100, 200 ή 400 µl
Απαιτούμενη έκδοση λογισμικού	Έκδοση 4.0 ή μεταγενέστερη
Απαιτούμενη διαμόρφωση λογισμικού για χρήση IVD	Προεπιλεγμένο προφίλ 1

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Για όλους τους τύπους δειγμάτων

- Buffer ATL, 4 x 50 ml (αρ. κατ. 939016)
- Για την ελαχιστοποίηση της περιεκτικότητας RNA: RNase A ελεύθερο DNάσης (πρωτογενές διάλυμα 100 mg/ml)

Για ιστό FFPE (αποπαραφίνωση χωρίς ξυλένιο)

- Deparaffinization Solution (αρ. κατ. 939018)

Για ιστό FFPE (αποπαραφίνωση με ξυλένιο)

- Ξυλένιο (99–100%)
- Αιθανόλη (96–100%)*

Συρτάρι Sample (Δείγμα)

Τύπος δείγματος	Ιστός FFPE και ιστός
Όγκος δείγματος	220 μl (απαιτούνται ανά δείγμα, ανά πρωτόκολλο)*
Όγκος δείγματος που υποβάλλεται σε επεξεργασία	200 μl
Κύρια σωληνάρια δείγματος	δ.ε.
Δευτερεύοντα σωληνάρια δείγματος	Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού, που βρίσκεται στην καρτέλα πόρων της σελίδας του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com .
Ένθετα	Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού, που βρίσκεται στην καρτέλα πόρων της σελίδας του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com .

* Για αμφότερα τα πρωτόκολλα υψηλής και χαμηλής περιεκτικότητας, το σύστημα δεν αναγνωρίζει εάν ο όγκος δείγματος είναι κάτω από 220 μl γιατί η μεταφορά δείγματος εκτελείται χωρίς ανίχνευση στάθμης υγρού. Επομένως, βεβαιωθείτε ότι ο όγκος εισαγόμενου δείγματος είναι 220 μl.

δ.ε. = δεν εφαρμόζεται.

Συρτάρι Reagents and Consumables (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα)

Θέση A1 ή/και A2	Φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC)
Θέση B1	δ.ε.
Στήριγμα βάσης ρυγχών 1–17	Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 ή 1500 μl
Στήριγμα κουτιού μονάδων 1–4	Κουτιά μονάδων που περιέχουν φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων ή 8-Rod Covers

δ.ε. = δεν εφαρμόζεται.

* Μην χρησιμοποιείτε μετουσιωμένη αλκοόλη, η οποία περιέχει πρόσθετες ουσίες όπως μεθανόλη ή μεθυλαιθυλοκετόνη.

Συρτάρι Waste (Απόβλητα)

Στήριγμα κουτιού μονάδων 1–4	Κενά κουτιά μονάδων
Στήριγμα σακούλας αποβλήτων	Σακούλα αποβλήτων
Στήριγμα φιάλης υγρών αποβλήτων	Κενή φιάλη υγρών αποβλήτων

Συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα)

Βάση έκλουσης (συνιστούμε τη χρήση της υποδοχής 1, θέση ψύξης)

Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού, που βρίσκεται στην καρτέλα πόρων της σελίδας του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com.

Απαιτούμενα πλαστικά υλικά

Πλαστικά υλικά	Μία παρτίδα 24 δείγματα*	Δύο παρτίδες 48 δείγματα*	Τρεις παρτίδες 72 δείγματα*	Τέσσερις παρτίδες 96 δείγματα*
Disposable filter-tips, 200 µl [†]	26	50	74	98
Disposable filter-tips, 1500 µl [†]	72	136	200	264
Sample prep cartridges [§]	21	42	63	84
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Η χρήση λιγότερων από 24 δειγμάτων ανά παρτίδα μειώνει τον αριθμό των αναλώσιμων ρυγχών φίλτρου που απαιτούνται ανά εκτέλεση.

[†] Υπάρχουν 32 ρύγχη φίλτρου/βάση ρυγχών.

[‡] Ο αριθμός των απαιτούμενων ρυγχών φίλτρου περιλαμβάνει ρύγχη φίλτρου για 1 σάρωση υλικού ανά RC.

[§] Κάθε κουτί μονάδων περιέχει 28 φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων.

[¶] Κάθε κουτί μονάδων περιέχει δώδεκα 8-Rod Covers.

Σημείωση: Ανάλογα με τις εκάστοτε ρυθμίσεις, οι αριθμοί των ρυγχών φίλτρου ενδέχεται να διαφέρουν από εκείνους που προβάλλονται στην οθόνη αφής. Συνιστούμε τη φόρτωση του μέγιστου δυνατού αριθμού ρυγχών.

Όγκος έκλουσης

Ο όγκος έκλουσης επιλέγεται στην οθόνη αφής. Ανάλογα με τον τύπο δείγματος και την περιεκτικότητα σε DNA, ο τελικός όγκος μπορεί να είναι έως και 15 µl μικρότερος από τον επιλεγμένο όγκο. Επειδή ο όγκος εκλούσματος μπορεί να ποικίλλει, συνιστούμε τον έλεγχο του πραγματικού όγκου εκλούσματος όταν χρησιμοποιείτε αυτοματοποιημένο σύστημα ρύθμισης παραμέτρων προσδιορισμού που δεν επαληθεύει τον όγκο εκλούσματος πριν από τη μεταφορά. Η έκλουση σε μικρότερους όγκους αυξάνει την τελική συγκέντρωση DNA, αλλά μειώνει ελαφρώς την απόδοση. Συνιστούμε τη χρήση κατάλληλου όγκου έκλουσης για την προοριζόμενη καθοδική εφαρμογή.

Προετοιμασία υλικών δειγμάτων

Κατά την εργασία με χημικές ουσίες, φοράτε πάντα κατάλληλη προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφαλείας (Safety Data Sheets, SDS), τα οποία διατίθενται από τον προμηθευτή του προϊόντος.

Για γενικές συστάσεις συλλογής, μεταφοράς και φύλαξης, ανατρέξτε στο εγκεκριμένο έγγραφο καθοδήγησης του CLSI, MM13-A «Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods».

Απαραίτητες ενέργειες πριν από την έναρξη

- Ελέγξτε το Buffer ATL ως προς την παρουσία λευκού ιζήματος. Εάν είναι απαραίτητο, επώαστε για 30 λεπτά στους 37 °C με περιστασιακή ανακίνηση για την διάλυση του ιζήματος.
- Ρυθμίστε έναν θερμομίκτη ή μια συσκευή ανακίνησης–επώασης στην απαιτούμενη θερμοκρασία για τη σχετική προκαταρκτική επεξεργασία.

Ιστοί

Για τον καθαρισμό του DNA μπορούν να χρησιμοποιηθούν νωποί και κατεψυγμένοι ιστοί. Η απόδοση και η ποιότητα του DNA θα εξαρτηθεί από τον τύπο, την προέλευση και τις συνθήκες φύλαξης του ιστού. Ο νωπός ιστός μπορεί να κοπεί σε μικρά τεμάχια και να φυλαχθεί στους -20 °C ή -80 °C πριν από την επεξεργασία. Γενικά συνιστούμε τη χρήση του πρωτοκόλλου υψηλής περιεκτικότητας, το οποίο και παρέχει αυξημένες αποδόσεις DNA. Το πρωτόκολλο χαμηλής περιεκτικότητας, σε συνδυασμό με τον όγκο έκλουσης των 50 μl συνιστάται μόνο εάν απαιτούνται υψηλές συγκεντρώσεις DNA για καθοδική ανάλυση. Εάν δεν υπάρχουν διαθέσιμες πληροφορίες σχετικά με την αναμενόμενη απόδοση, συνιστούμε να ξεκινήσετε με 25 mg δείγματος με χρήση του πρωτοκόλλου υψηλής περιεκτικότητας και όγκο έκλουσης 200 μl. Ανάλογα με την επιτευχθείσα απόδοση μπορείτε να αυξήσετε τον όγκο του δείγματος ή να μειώσετε τον όγκο έκλουσης στις επόμενες παρασκευές. Λάβετε υπόψη πως η υπερφόρτωση προετοιμασιών σε συνδυασμό με μικρούς όγκους έκλουσης μπορεί να οδηγήσει σε επιμόλυνση του εκλούσματος με μαγνητικά σωματίδια, έχοντας δυσμενείς συνέπειες στην καθαρότητα του DNA και στην καθοδική ανάλυση.

Σημείωση: Κατά την εργασία με κατεψυγμένα δείγματα ιστού, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη το πρότυπο ISO 20184-3:2021 (E) για αυτοματοποιημένη εκχύλιση NA από κατεψυγμένα δείγματα ιστού.

Σημείωση: Η σταθερότητα του δείγματος εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από διάφορους παράγοντες και σχετίζεται με τη συγκεκριμένη καθοδική εφαρμογή. Ο χρήστης φέρει την ευθύνη να συμβουλευτεί τις οδηγίες χρήσης της συγκεκριμένης καθοδικής εφαρμογής που χρησιμοποιείται στο εργαστήριό του ή/και να επικυρώνει το σύνολο της ροής εργασιών για να καθορίσει τις κατάλληλες συνθήκες φύλαξης.

Πρωτόκολλο προκαταρκτικής επεξεργασίας για ιστούς

1. Μεταφέρετε το δείγμα ιστού σε σωληνάριο μικροφυγόκεντρου 2 ml (δεν παρέχεται).
2. Προσθέστε 220 μl Buffer ATL.
3. Προσθέστε 20 μl πρωτεΐνης K και αναμείξτε με ήπια πλήξη του σωληναρίου.

Σημείωση: Χρησιμοποιήστε πρωτεΐνη K από τη βάση ενζύμων του QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit.

4. Τοποθετήστε το σωληνάριο σε θερμομίκτη ή συσκευή ανακίνησης–επώασης και επώαστε στους 56 °C με ανακίνηση στις 900 σ.α.λ. ή ώσπου να επιτευχθεί πλήρης λύση του ιστού.

Σημείωση: Ο χρόνος λύσης εξαρτάται από τον τύπο ιστού που υποβάλλεται σε επεξεργασία. Η λύση των περισσότερων ιστών ολοκληρώνεται εντός 3 ωρών. Εάν η λύση δεν έχει ολοκληρωθεί εντός 3 ωρών, γεγονός που υποδεικνύεται από την παρουσία αδιάλυτου υλικού ή διαλυμάτων λύσης υψηλού ιξώδους, μπορεί να παραταθεί ο χρόνος λύσης ή να αφαιρεθεί το αδιάλυτο υλικό με φυγοκέντρηση, σύμφωνα με την περιγραφή στο βήμα 6. Η λύση κατά τη διάρκεια της νύχτας είναι εφικτή και δεν επηρεάζει την προετοιμασία.

5. Για να ελαχιστοποιήσετε την περιεκτικότητα RNA του δείγματος, προσθέστε 4 μl RNase A (100 mg/ml) και επώαστε για 2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C) προτού συνεχίσετε στο βήμα 6.

6. Ομογενοποιήστε το δείγμα με επαναλαμβανόμενη αναρρόφηση/εξώθηση με πιπέτα.

Σημείωση: Εάν παραμένουν τεμάχια αδιάλυτου υλικού, φυγοκεντρίστε σε 3000 x g για 1 λεπτό.

7. Μεταφέρετε προσεκτικά 220 μl του υπερκείμενου υγρού σε σωληνάρια δείγματος που είναι συμβατά με τον φορέα δειγμάτων του QIAasymphony SP.

8. Για τον πλήρη κατάλογο των συμβατών σωληναρίων δείγματος, βλ. κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού στον ιστότοπο www.qiagen.com. Συνιστούμε τη χρήση σωληναρίων των 2 ml (π.χ. Sarstedt, αρ. κατ. 72.693 ή 72.608).

Ιστός FFPE

Οι τυπικές διαδικασίες FFPE οδηγούν πάντοτε σε σημαντικό κατακερματισμό νουκλεϊκών οξέων. Για να περιορίσετε την έκταση του κατακερματισμού του DNA, διασφαλίστε τα εξής:

- Μονιμοποιήστε τα δείγματα ιστού σε φορμόλη 4–10% το συντομότερο δυνατό μετά τη χειρουργική αφαίρεση
- Εφαρμόστε χρόνο μονιμοποίησης 14–24 ωρών (οι μεγαλύτεροι χρόνοι μονιμοποίησης επιδεινώνουν τον κατακερματισμό του DNA, οδηγώντας σε πτωχή απόδοση σε καθοδικούς προσδιορισμούς)
- Αφυδατώστε σχολαστικά τα δείγματα πριν από την έγκλειση (η παραμένουσα φορμόλη μπορεί να αναστείλει την πεπτική δράση της πρωτεΐνάσης K)

Το υλικό εκκίνησης για τον καθαρισμό του DNA θα πρέπει να είναι πρόσφατες τομές ιστού FFPE. Σε μία προετοιμασία μπορούν να υποβληθούν σε επεξεργασία έως και 4 τομές, πάχους έως 10 μm έκαστη ή 8 τομές, πάχους έως 5 μm έκαστη και επιφάνεια έως 250 mm². Εάν δεν υπάρχουν διαθέσιμες πληροφορίες σχετικά με τη φύση του υλικού εκκίνησης, συνιστούμε να ξεκινήσετε χρησιμοποιώντας όχι περισσότερες από 3 τομές σε μία προετοιμασία. Ανάλογα με την απόδοση και την καθαρότητα του DNA, ενδεχομένως να μπορούν να χρησιμοποιηθούν έως και 8 τομές στις επόμενες παρασκευές.

Σημείωση: Κατά την εργασία με ιστό FFPE, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη το πρότυπο ISO 20166-3:2018 (E) για αυτοματοποιημένη εκχύλιση NA από δείγματα ιστού FFPE, για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τον χειρισμό των δειγμάτων.

Σημείωση: Τα πρωτόκολλα ιστών FFPE έχουν σχεδιαστεί ειδικά ώστε να καθαρίζουν ταυτοχρόνως μικρές μόνο ποσότητες RNA. Το γεγονός αυτό θα οδηγήσει σε χαμηλότερη τιμή φωτομετρικής μέτρησης σε σύγκριση με τις τιμές που λαμβάνονται με το χειροκίνητο QIAamp[®] DSP DNA FFPE Tissue Kit.

Πρωτόκολλο προκαταρκτικής επεξεργασίας για ιστούς FFPE

Μέθοδος 1: αποπαραφίνωση με Deparaffinization Solution

1. Χρησιμοποιώντας ένα νυστέρι, αποκόψτε την περίσσεια παραφίνης από το μπλοκ του δείγματος.

2. Δημιουργήστε έως και 4 τομές πάχους 10 μm ή έως και 8 τομές πάχους 5 μm.

Σημείωση: Εάν η επιφάνεια του δείγματος έχει εκτεθεί στον αέρα, απορρίψτε τις πρώτες 2–3 τομές.

3. Τοποθετήστε αμέσως τις τομές σε σωληνάριο Sarstedt των 2 ml (δεν παρέχεται, αρ. κατ. 72.693 ή 72.608), συμβατό με τον φορέα δειγμάτων του QIAasymphony SP.

4. Προσθέστε 200 μl Buffer ATL στις τομές.

5. Προσθέστε 20 μl πρωτεΐνάσης K.

Σημείωση: Χρησιμοποιήστε πρωτεϊνάση K από τη βάση ενζύμων του QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

6. Προσθέστε 160 μl ή 320 μl Deparaffinization Solution (βλ. παρακάτω πίνακα) και αναμίξτε με ανάδευση.

Πάχος τομών	Αριθμός τομών	Όγκος Deparaffinization Solution
5 μm	1–4	160 μl
	5–8	320 μl
10 μm	1–2	160 μl
	3–4	320 μl

7. Τοποθετήστε το σωληνάριο σε ThermoMixer ή συσκευή ανακίνησης–επώασης και επωάστε στους 56 °C για 1 ώρα με ανακίνηση στις 1000 σ.α.λ., ώσπου να επιτευχθεί πλήρης λύση του ιστού.

Σημείωση: Ο χρόνος λύσης εξαρτάται από τον τύπο ιστού που υποβάλλεται σε επεξεργασία. Η λύση των περισσότερων ιστών ολοκληρώνεται εντός 1 ώρας. Εάν η λύση δεν έχει ολοκληρωθεί εντός 1 ώρας, γεγονός που υποδεικνύεται από την παρουσία αδιάλυτου υλικού, μπορεί να παραταθεί ο χρόνος λύσης ή να προκληθεί καθίζηση του αδιάλυτου υλικού με φυγοκέντριση, σύμφωνα με την περιγραφή στο βήμα 10. Η λύση κατά τη διάρκεια της νύχτας είναι εφικτή και δεν επηρεάζει την προετοιμασία.

8. Επωάστε στους 90 °C για 1 ώρα.

Σημείωση: Η επώαση στους 90 °C σε Buffer ATL αναστρέφει μερικώς τις τροποποιήσεις που επιφέρει η φορμαλδεΐδη στα νουκλεϊκά οξέα. Οι μεγαλύτεροι χρόνοι επώασης ή οι υψηλότερες θερμοκρασίες επώασης μπορούν να οδηγήσουν σε περαιτέρω κατακερματισμό του DNA. Εάν χρησιμοποιείτε μόνο ένα θερμικό μπλοκ, αφήστε το δείγμα σε θερμοκρασία δωματίου μετά την επώαση στους 56 °C, ώσπου το θερμικό μπλοκ να φτάσει στους 90 °C.

9. Για να ελαχιστοποιήσετε την περιεκτικότητα RNA στο δείγμα, προσθέστε 2 μl RNase A (100 mg/ml) στην κατώτερη φάση και επωάστε για 2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου προτού συνεχίσετε στο βήμα 10. Αφήστε το δείγμα να επανέλθει σε θερμοκρασία δωματίου προτού προσθέσετε RNase A.

10. Φυγοκεντρίστε με πλήρη ταχύτητα για 1 λεπτό, σε θερμοκρασία δωματίου.

11. Μεταφέρετε προσεκτικά τα σωληνάκια (που περιέχουν και τις δύο φάσεις) στον φορέα δειγμάτων του QIASymphony SP.

Μέθοδος 2: αποπαραφίνωση με χρήση ξυλενίου

1. Χρησιμοποιώντας ένα νυστέρι, αποκόψτε την περίσσεια παραφίνης από το μπλοκ του δείγματος.

2. Δημιουργήστε έως και 4 τομές πάχους 10 μm ή έως και 8 τομές πάχους 5 μm.

Σημείωση: Εάν η επιφάνεια του δείγματος έχει εκτεθεί στον αέρα, απορρίψτε τις πρώτες 2–3 τομές.

3. Τοποθετήστε αμέσως τις τομές σε σωληνάριο μικροφυγόκεντρου 1,5 ή 2 ml (δεν παρέχεται), και προσθέστε 1 ml ξυλενίου στο δείγμα. Κλείστε το κάλυμμα και αναδεύστε έντονα για 10 δευτερόλεπτα.

4. Φυγοκεντρίστε με πλήρη ταχύτητα για 2 λεπτά, σε θερμοκρασία δωματίου.

5. Απομακρύνετε το υπερκείμενο υγρό με πιπέτα. Αφήστε το συσσωμάτωμα ανέπαφο.

6. Προσθέστε 1 ml αιθανόλης (96–100%) στο ίζημα και αναμίξτε με ανάδευση.

Σημείωση: Η αιθανόλη εξάγει το παραμένον ξυλενίου από το δείγμα.

7. Φυγοκεντρίστε με πλήρη ταχύτητα για 2 λεπτά, σε θερμοκρασία δωματίου.

8. Απομακρύνετε το υπερκείμενο υγρό με πιπέτα. Αφήστε το συσσωμάτωμα ανέπαφο.

Σημείωση: Απομακρύνετε προσεκτικά τυχόν υπολειπόμενη αιθανόλη, χρησιμοποιώντας ένα λεπτό ρύγχος πιπέτας.

9. Ανοίξτε το σωληνάριο και επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C) για 10 λεπτά ή ώσπου εξατμιστεί πλήρως η υπολειπόμενη αιθανόλη.

Σημείωση: Η επώαση μπορεί να γίνει σε θερμοκρασίες έως 37 °C.

10. Επανεναιωρήστε το συσσωμάτωμα σε 220 µl Buffer ATL.

11. Προσθέστε 20 µl πρωτεΐνάσης K και αναμίξτε με ανάδευση.

Σημείωση: Χρησιμοποιήστε πρωτεΐνάση K από τη βάση ενζύμων του QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit.

12. Επωάστε στους 56 °C για 1 ώρα (ή ώσπου να επιτευχθεί πλήρης λύση του δείγματος).

Σημείωση: Ο χρόνος λύσης εξαρτάται από τον τύπο ιστού που υποβάλλεται σε επεξεργασία. Η λύση των περισσότερων ιστών ολοκληρώνεται εντός 1 ώρας. Εάν η λύση δεν έχει ολοκληρωθεί εντός 1 ώρας, γεγονός που υποδεικνύεται από την παρουσία αδιάλυτου υλικού, μπορεί να παραταθεί ο χρόνος λύσης ή να αφαιρεθεί το αδιάλυτο υλικό με φυγοκέντριση, σύμφωνα με την περιγραφή στο βήμα 16. Η λύση κατά τη διάρκεια της νύχτας είναι εφικτή και δεν επηρεάζει την προετοιμασία.

13. Επωάστε στους 90 °C για 1 ώρα.

Σημείωση: Η επώαση στους 90 °C σε Buffer ATL αναστρέφει μερικώς τις τροποποιήσεις που επιφέρει η φορμαλδεΐδη στα νουκλεϊκά οξέα. Οι μεγαλύτεροι χρόνοι επώασης ή οι υψηλότερες θερμοκρασίες επώασης μπορούν να οδηγήσουν σε περαιτέρω κατακερματισμό του DNA. Εάν χρησιμοποιείτε μόνο ένα θερμικό μπλοκ, αφήστε το δείγμα σε θερμοκρασία δωματίου μετά την επώαση στους 56 °C, ώσπου το θερμικό μπλοκ να φτάσει στους 90 °C.

14. Φυγοκεντρίστε σύντομα το δείγμα για να απομακρύνετε σταγονίδια από την εσωτερική πλευρά του καλύμματος.

15. Για να ελαχιστοποιήσετε την περιεκτικότητα RNA στο δείγμα, προσθέστε 2 µl RNase A (100 mg/ml) και επωάστε για 2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου προτού συνεχίσετε στο βήμα 16. Αφήστε το δείγμα να επανέλθει σε θερμοκρασία δωματίου προτού προσθέσετε RNase A.

16. Μεταφέρετε προσεκτικά 220 µl του διαλύματος λύσης σε σωληνάρια δείγματος που είναι συμβατά με τον φορέα δειγμάτων του QIAAsymphony SP.

Σημείωση: Εάν τα διαλύματα λύσης περιέχουν αδιάλυτο υλικό, φυγοκεντρίστε με πλήρη ταχύτητα για 2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου προτού μεταφέρετε το υπερκείμενο υγρό σε σωληνάρια δείγματος. Για τον πλήρη κατάλογο των συμβατών σωληναρίων δείγματος, βλ. κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού στον ιστότοπο www.qiagen.com. Συνιστούμε τη χρήση σωληναρίων των 2 ml (π.χ. Sarstedt, αρ. κατ. 72.693 ή 72.608).

Φύλαξη εκλουσμάτων

Συνιστάται η αφαίρεση της πλάκας εκλούσματος από το συρτάρι «Eluate» (Εκλούσμα) αμέσως μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης. Οι πλάκες έκλυσης μπορούν να παραμείνουν στο QIAAsymphony SP μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης κατά τη διάρκεια της νύχτας (μέγιστος χρόνος 12 ώρες, συμπεριλαμβανομένου του χρόνου εκτέλεσης, συνιστώμενες περιβαλλοντικές συνθήκες: θερμοκρασία 18–26 °C και σχετική υγρασία 20–75%). Ανάλογα με τη θερμοκρασία και την υγρασία, το έκλουσμα μπορεί να υποστεί συμπύκνωση ή εξάτμιση.

Για βραχυπρόθεσμη φύλαξη, τα εκλούσματα μπορούν να φυλαχθούν σε θερμοκρασία δωματίου για έως και 2 εβδομάδες. Για μακροπρόθεσμη φύλαξη, συνιστούμε φύλαξη στους 2–8 °C, –20 °C ή –80 °C.

Σημείωση: Η σταθερότητα του εκλούσματος εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από διάφορους παράγοντες και σχετίζεται με τη συγκεκριμένη καθοδική εφαρμογή. Έχει τεκμηριωθεί για το QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit σε συνδυασμό με ενδεικτικές καθοδικές εφαρμογές. Ο χρήστης φέρει την ευθύνη να συμβουλευτεί τις οδηγίες χρήσης της συγκεκριμένης καθοδικής εφαρμογής που χρησιμοποιείται στο εργαστήριό του ή/και να επικυρώνει το σύνολο της ροής εργασιών για να καθορίσει τις κατάλληλες συνθήκες φύλαξης.

Σημαντική πληροφορία πριν από την έναρξη

- Τα μαγνητικά σωματίδια QIASymphony καθαρίζουν παράλληλα RNA και DNA, εάν υπάρχουν αμφότερα στο δείγμα. Εάν απαιτείται DNA ελεύθερο από RNA, προσθέστε RNase A στο δείγμα, κατά τη διάρκεια του βήματος που επισημαίνεται στο σχετικό πρωτόκολλο προκαταρκτικής επεξεργασίας.





Περιορισμοί και παρεμβαλλόμενες ουσίες

Κατά την ανάπτυξη του QIASymphony DSP DNA Mini Kit, δεν εντοπίστηκαν παρεμβαλλόμενες ουσίες που έχουν αρνητική επίδραση στην προετοιμασία των δειγμάτων.

Σημείωση: Διεξήχθησαν εξετάσεις με τη χρήση ενδεικτικών καθοδικών εφαρμογών για την αξιολόγηση της ποιότητας των εκχυλισμένων νουκλεϊκών οξέων. Ωστόσο, διαφορετικές καθοδικές εφαρμογές μπορεί να έχουν διαφορετικές απαιτήσεις όσον αφορά την καθαρότητα (δηλ. απουσία πιθανών παρεμβαλλόμενων ουσιών), έτσι η αναγνώριση και η εξέταση των σχετικών ουσιών πρέπει να τεκμηριωθεί επίσης στο πλαίσιο της ανάπτυξης της καθοδικής εφαρμογής για οποιαδήποτε ροή εργασιών που περιλαμβάνει τα QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

Σύμβολα

Σε αυτό το έγγραφο εμφανίζονται τα παρακάτω σύμβολα. Για ένα πλήρη κατάλογο των συμβόλων που χρησιμοποιούνται στις οδηγίες χρήσης ή στη συσκευασία και την επισήμανση, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο.

Σύμβολο	Ορισμός συμβόλου
	Το προϊόν πληροί τις απαιτήσεις του Ευρωπαϊκού Κανονισμού 2017/746 για τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα.
	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Αριθμός καταλόγου
Rn	Η ένδειξη R αφορά την αναθεώρηση των οδηγιών χρήσης και n είναι ο αριθμός αναθεώρησης
	Κατασκευαστής

Ιστορικό αναθεώρησης

Αναθεώρηση

R1, Ιούνιος 2022

Περιγραφή

Έκδοση 2, Αναθεώρηση 1

- Ενημέρωση στην έκδοση 2 για συμμόρφωση με τις απαιτήσεις περί IVD
- προσθήκη ενότητας «Περιορισμοί και παρεμβαλλόμενες ουσίες»
- Προσθήκη ενότητας «Φύλαξη εκλουσμάτων»
- Προσθήκη ενότητας «Σύμβολα»
- Ενημέρωση ενότητας «Προετοιμασία υλικών δειγμάτων»

Για ενημερωμένες πληροφορίες άδειας και δηλώσεις αποποίησης ευθύνης σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στις αντίστοιχες οδηγίες ή εγχειρίδιο χρήσης του kit QIAGEN®. Οι οδηγίες και τα εγχειρίδια χρήσης των kit QIAGEN διατίθενται στον ιστότοπο www.qiagen.com. Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το τμήμα Τεχνικής Εξυπηρέτησης της QIAGEN ή τον τοπικό διανομέα σας.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIASymphony® (QIAGEN Group), BD™ (Becton Dickinson and Company), Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Οι καταχωρισμένες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα κ.λπ. που χρησιμοποιούνται στο παρόν έγγραφο δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευόμενα από τον νόμο, ακόμα και εάν αυτό δεν υποδεικνύεται ρητώς.
06/2022 HB-3029-S07-001© 2022 QIAGEN, με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.