

December 2017

List protokolu QIASymphony[®] SP

Protokol DNA_Buffy_Coat_200_V7 DSP

Tento dokument predstavuje *list protokolu QIASymphony SP* pre DNA_Buffy_Coat_200_V7 DSP, R2, 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 Mini Kit.

| | |
|--|---|
| Súprava | Súprava QIASymphony DSP DNA Mini Kit (kat. č. 937236) |
| Materiál vzorky | Leukocyto-doštičková vrstva (antikoagulovaná EDTA, citrátom, alebo heparínom) |
| Názov protokolu | DNA_BC_200_V7_DSP |
| Predvolená kontrolná sada analýzy | ACS_BC_200_V7_DSP |
| Možno upraviť | Elučný objem: 200 µl, 300 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 chladienia) | 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 ^{††} | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Jednorazové filtračné špičky, 1500 µl ^{††} | 110 | 212 | 314 | 416 |
| 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 reagenciami.

[§] 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 RNázu 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 200 µl leukocyto-doštičkovej vrstvy, 6×10^6 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 | |
|----------------------------|--|
| R2 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-S05-002 © 2017 QIAGEN, všetky práva vyhradené.

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