

Aralık 2017

QIAsymphony® SP Protokol Sayfası

DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP protokolü

Bu belge, QIAsymphony DSP DNA Mini Kit, versiyon 1 için DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP QIAsymphony SP Protokol Sayfası, R3'tür.

Genel bilgiler

QIASymphony DSP DNA Kitinin in vitro diagnostik kullanım için olması amaçlanmıştır.

Bu protokol QIASymphony SP ve QIASymphony DSP DNA Midi Kit kullanarak taze veya donmuş buffy coat'tan total genomik ve mitokondriyal DNA saflaştırılması içindir.

Kit	QIASymphony DSP DNA Midi Kit (kat. no. 937255)
Örnek materyali	Buffy coat (EDTA, sitrat veya heparin ile antikoagüle)
Protokol adı	DNA_BC_400_V6_DSP
Varsayılan Analiz Kontrol Seti	ACS_BC_400_V6_DSP
Düzenlenebilir	Elüsyon hacmi: 200 µl, 400 µl
Gereken yazılım versiyonu	Versiyon 4.0 veya üstü

"Sample" (Örnek) çekmecesi

Örnek tipi	Buffy coat (EDTA, sitrat veya heparin ile antikoagüle)
Örnek hacmi	Kullanılan örnek tüpünün tipine bağlıdır; daha fazla bilgi için bkz. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Primer örnek tüpleri	n/a
Sekonder örnek tüpleri	Daha fazla bilgi için bkz. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
İnsertler	Kullanılan örnek tüpünün tipine bağlıdır; daha fazla bilgi için bkz. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

n/a = uygulanamaz.

"Reagents and Consumables" (Reaktifler ve Sarf Malzemeleri) çekmecesi

Pozisyon A1 ve/veya A2	Reaktif kartuşu
Pozisyon B1	n/a
Uç askı tutucu 1–17	Tek kullanımlık filtre uçları, 200 µl veya 1500 µl
Ünite kutusu tutucu 1–4	Örnek hazırlama kartuşları veya 8 Rod Kılıfları içeren ünite kutuları

n/a = uygulanamaz.

"Waste" (Atık) çekmecesi

Ünite kutusu tutucu 1–4	Boş ünite kutuları
Atık torbası tutucu	Atık torbası
Sıvı atık şişesi tutucu	Boş sıvı atık şişesi

"Eluate" (Elüat) çekmecesi

Elüsyon askısı (yuva 1, soğutma pozisyonu kullanıldığını öneririz)

Daha fazla bilgi için bkz.
www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Gerekli plastik gereçler

	Bir grup, 24 örnek*	İki grup, 48 örnek*	Üç grup, 72 örnek*	Dört grup, 96 örnek*
Tek kullanımlık filtre uçları, 200 µl ^{†‡}	4	4	4	8
Tek kullanımlık filtre uçları, 1500 µl ^{†‡}	110	212	314	424
Örnek hazırlama kartuşları [§]	18	36	54	72
8-Rod Kılıfları [¶]	3	6	9	12

* Grup başına 24'ten az örnek kullanılması çalışma başına gereken tek kullanımlık filtre ucu sayısını azaltır.

† Uç askısı başına 32 filtre ucu vardır.

‡ Gereken filtre ucu sayısına reaktif kartuşu başına 1 envanter taraması için filtre uçları dahildir.

§ Ünite kutusu başına 28 örnek hazırlama kartuşu vardır.

¶ Ünite kutusu başına on iki 8 Rod Kılıfı vardır.

Not: Verilen filtre ucu sayısı ayarlara bağlı olarak dokunmalı ekranda gösterilen rakamlardan farklı olabilir. Maksimum olası uç sayısının yüklenmesini öneririz.

Elüsyon hacmi

Elüsyon hacmi dokunmatik ekranda seçilir. Örnek tipine ve DNA içeriğine bağlı olarak son elüat hacmi hacimden 15 µl'ye kadar daha az olabilir. Elüat hacminin değişebileceği gerçeğinden dolayı, aktarma öncesinde elüat hacmini doğrulamayan bir otomatik tahlil kurulumu sistemi kullanılırken fiili elüat hacminin kontrol edilmesini öneririz. Daha düşük hacimlerde elüsyon son DNA konsantrasyonunu artırır ancak verimi biraz düşürür. İstenen aşağı akışlı uygulama için uygun bir elüsyon hacmi kullanılmasını öneririz.

Örnek materyalinin hazırlanması

Kimyasallar ile çalışırken, her zaman uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için ürün tedarikçisinden elde edilebilecek uygun güvenlik veri sayfalarına (safety data sheets, SDS'ler) başvurun.

Başlamadan önce önemli nokta

- QIASymphony manyetik parçacıkları, örnekte bulunması durumunda RNA'yı kopürifiye edebilir. Örnekteki RNA içeriğini en aza indirmek için prosedürü başlatmadan önce örneğe RNase A ekleyin. Son RNase A konsantrasyonu 2 mg/ml olmalıdır.

Buffy coat

Buffy coat, tam kanın lökosit yönünden zengin bir fraksiyonudur. Lökosit yönünden zenginliğin verimi buffy coat'un hazırlanması için kullanılan prosedüre ve buffy coat tabakasının çıkarılma doğruluğuna bağlı olur. Buffy coat'u standart bir antikoagülan (EDTA, sitrat veya heparin) içeren tam kan örneklerini oda sıcaklığında (15–25°C), 900–1100 x g'de 10 dakika santrifüjleyerek hazırlayın. Santrifüjleme sonrasında 3 farklı fraksiyon birbirinden ayrılabilir hale gelir: üstteki şeffaf tabaka plazma, ortadaki tabaka ise konsantre lökositleri içeren buffy coat'tur; alttaki tabaka konsantre eritrositleri içerir. Ortalama olarak 5–6x zenginleştirme sağlayan 10 ml'lik santrifüjlü tam kandan yaklaşık 1 ml lökosit içerikli fraksiyon elde edilecektir. Örneğin akyuvar sayısı 6×10^6 hücre/ml olan 10 ml'lik tam kan, 1 ml buffy coat sağlar. Akyuvarların 5x seviyesinde zenginleştirildiği varsayıldığında bu, 3×10^7 hücre/ml ile sonuçlanır. Dolayısıyla, 400 µl buffy coat kullanan bir protokolda $1,2 \times 10^7$ hücre kullanılacaktır.

DNA saflaştırma prosedürüne fazla yükleme yapmaktan kaçınmak için 10x'ten fazla zenginleştirmeli buffy coat örnekleri hazırlamayın. Buffy coat örneklerinin 10x'ten fazla zenginleştirmeli olması durumunda örnekleri 10x zenginleştirme seviyesine veya bunun aşığına incek şekilde PBS ile seyreltin ya da DNA saflaştırma prosedüründen daha az başlangıç materyali kullanın.

Buffy coat örnekleri hemen kullanılabilir veya DNA'nın daha sonra saflaştırılması için –20°C veya –70°C'de depolanabilir. Donmuş örnekler 37°C'lik bir su banyosunda iyice karışmalarını sağlamak için hafifçe çalkalanarak çabucak çözündürülmeli ve ardından prosedür başlatılmadan önce oda sıcaklığına (15–25°C) dengelenmelidir. Güvenilir örnek transferi sağlamak için örnek tüplerinde köpük oluşmasından kaçının. Örneklerde kan pıhtıları bulunmasından kaçınmaya çalışın ve gerekirse örneği pıhtılar olmadan yeni bir tüpe aktarın.

Revizyon geçmiři

Belge Revizyon Geçmiři	
R3 12/2017	QIASymphony Yazılımı versiyon 5.0

Güncel lisanslama bilgisi ve ürüne özel ret beyanları için ilgili QIAGEN® kiti el kitabı veya kullanıcı el kitabına bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Technical Services veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Ticari markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Bu belgede geçen kayıtlı isimler, ticari markalar, vb. açıkça bu şekilde belirtilmemiş olsa bile yasalarda korunmaktadır.
12/2017 HB-0977-S06-003 © 2017 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

Sipariş Verme www.qiagen.com/shop | Teknik Destek support.qiagen.com | Web Sitesi www.qiagen.com