Červen 2022

Návod k použití sady QIAsymphony® DSP DNA Midi Kit (protokolový list)

Protokol DNA_Blood_1000_V7_DSP

Verze 2

IVD

K diagnostickému použití in vitro

K použití se sadou QIAsymphony DSP DNA Midi Kit (96)

CE

REF 937255

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden, Německo

R1

Protokol je k dispozici v elektronické podobě a najdete jej na produktové stránce v záložce zdroje na adrese www.qiagen.com.

Všeobecné informace

Sada QIAsymphony DSP DNA Kit je určena k diagnostickým účelům in vitro.

Tento protokol je určen k purifikaci celkové genomové a mitochondriální DNA z čerstvé nebo zmrazené lidské plné krve pomocí sad QIAsymphony SP a QIAsymphony DSP DNA Midi Kit.

Sada	QIAsymphony DSP DNA Midi Kit (kat. č. 937255)
Materiál vzorku	Lidská plná krev (EDTA, citrát, nebo heparinem anti-koagulační)
Název protokolu	Blood_1000_V7_DSP
Výchozí kontrolní sada analýzy	ACS_Blood_1000_V7_DSP
Editovatelné	Eluční objem: 200, 400 a 500 µl
Požadovaná verze softwaru	Verze 4.0 nebo vyšší
Požadovaná konfigurace softwaru k použití IVD	Výchozí profil 1

Zásuvka „Sample“ (Vzorek)

Typ vzorku	Lidská plná krev (EDTA, citrát, nebo heparinem anti-koagulační)
Objem vzorku	Záleží na typu použité zkumavky; další informace naleznete v seznamu laboratorního vybavení, který je k dispozici na produktové stránce na adrese adrese www.qiagen.com v záložce zdroje.
Odběrové zkumavky vzorku	Další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod záložkou zdroje na produktové stránce na adrese www.qiagen.com.
Zkumavky sekundárního vzorku	Další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod záložkou zdroje na produktové stránce na adrese www.qiagen.com.
Vložky	Záleží na typu použité zkumavky; další informace naleznete v seznamu laboratorního vybavení, který je k dispozici na produktové stránce na adrese adrese www.qiagen.com v záložce zdroje.

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

Pozice A1 a/nebo A2	Kazeta s reagenciemi (RC)
Poloha B1	–
Držák se stojánkem pro špičky 1–17	Jednorázové filtrační špičky, 200 nebo 1500 µl
Držák boxu jednotky 1–4	Jednotkové krabice obsahující kazety pro přípravu vzorků nebo 8-Rod Covers

– = neuvedeno.

Zásuvka „Waste“ (Odpad)

Držák boxu jednotky 1–4	Prázdné jednotkové krabice
Držák odpadních sáčků	Odpadní sáček
Držák nádoby na tekutý odpad	Prázdná lahev na kapalný odpad

Zásuvka „Eluate“ (Eluát)

Eluční stojánek (doporučujeme použít chladicí pozici, slot 1)

Další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod záložkou zdroje na produktové stránce na adrese www.qiagen.com.

Požadované plastové vybavení

Plastové vybavení	Jedna šarže 24 vzorků*	Dvě šarže 48 vzorků*	Tři šarže 72 vzorků*	Čtyři šarže 96 vzorků*
Disposable filter-tips, 200 µl†‡	4	4	8	8
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	114	220	334	440
Sample prep cartridges§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	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 inventární sken na jeden RC.
§ V jednotkové krabici je 28 kazet pro přípravu vzorků.
¶ V jednotkové krabici je dvanáct 8-Rod Covers.

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

Elační 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. Protože 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 výtěžnost. Doporučujeme používat eluční objem vhodný pro zamýšlenou aplikaci v dalších krocích.

Příprava materiálu vzorků

Při manipulaci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní pracovní oděv, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Další informace si vyhledejte v příslušných bezpečnostních listech (BL) které obdržíte od dodavatele výrobku.

Obecná doporučení pro odběr, transport a skladování jsou uvedena ve schváleném pokynu CLSI MM13-A „Odběr, transport, příprava a skladování vzorků pro molekulární metody“. Dále je třeba při přípravě, skladování, přepravě a obecné manipulaci se vzorky dodržovat pokyny výrobce vybraného zařízení pro odběr vzorků.

Nezávisle na pokynech výrobce zkumavky pro odběr krve je třeba vzít v úvahu normu ISO 20186-2:2019 (E) pro automatickou extrakci gDNA z venózní plné krve.

Lidská plná krev

Používat lze vzorky plné krve ošetřené EDTA, citrátem nebo heparinem, které mohou být čerstvé nebo zmrazené. Pokud používáte čerstvé krevní vzorky v primárních zkumavkách, před vložením do QIAsymphony SP je důkladně promíchejte (např. několikerým převrácením zkumavek). Zmrazené vzorky je třeba rychle rozmrazit ve vodní lázni o teplotě 37 °C za mírného míchání, aby se zajistilo důkladné promíchání, a poté je před zahájením postupu vyrovnat na pokojovou teplotu (15–25 °C). Pro zajištění spolehlivého přenosu vzorku se vyhněte tvorbě pěny ve zkumavkách. Snažte se zabránit vzniku krevních sraženin ve vzorcích a v případě potřeby přeneste vzorek bez sraženin do čerstvé zkumavky.

Výtěžnost a kvalita purifikované DNA závisí na podmínkách skladování krve. Čerstvější vzorky krve mohou vést k lepším výsledkům. Pro krátkodobé skladování do 10 dnů doporučujeme skladovat při teplotě 2–8 °C. Pro aplikace vyžadující maximální velikost fragmentů, jako je například Southernův přenos, však doporučujeme skladování při teplotě 2–8 °C pouze po dobu 3 dnů, protože po této době dochází k degradaci nízkých úrovní DNA. Pro dlouhodobé skladování (více než 10 dní) odebírejte krev do zkumavek obsahujících standardní antikoagulant (nejlépe EDTA, pokud je požadována vysokomolekulární DNA) a skladujte při –20 °C nebo –80 °C.

Poznámka: Stabilita alikvotu závisí na různých faktorech a souvisí s konkrétní následnou aplikací. Byla stanovena pro sady QIAsymphony DSP DNA Midi Kit ve spojení s příkladnými následnými aplikacemi. Uživatel je povinen konzultovat návod k použití konkrétní navazující aplikace používané v jeho laboratoři a/nebo ověřit celý pracovní postup za účelem stanovení vhodných podmínek skladování.

Uchovávání eluátů

Doporučuje se vyjmout destičku s eluáty ze zásuvky „Eluate“ (Eluát) ihned po skončení cyklu. Eluční destičky mohou být ponechány v přístroji QIAsymphony SP po skončení běhu přes noc (maximálně 12 hodin, včetně doby běhu; doporučené podmínky prostředí: relativní vlhkost 18–26 °C a relativní vlhkost 20-75%). V závislosti na teplotě a vlhkosti může docházet ke kondenzaci nebo vypařování eluátů.

Pro krátkodobé skladování lze eluáty uchovávat při pokojové teplotě po dobu až 2 týdnů. Pro dlouhodobé skladování doporučujeme uchovávat při teplotách 2–8 °C, –20 °C nebo –80 °C. Zmrazené eluáty se nesmí rozmrazovat více než třikrát.

Poznámka: Stabilita eluátů závisí na různých faktorech a souvisí s konkrétní následnou aplikací. Byla stanovena pro sady QIAsymphony DSP DNA Midi Kit ve spojení s příkladnými následnými aplikacemi. Uživatel je povinen konzultovat návod k použití konkrétní navazující aplikace používané v jeho laboratoři a/nebo ověřit celý pracovní postup za účelem stanovení vhodných podmínek skladování.

Důležitý bod před zahájením

- Magnetické částice QIAsymphony mohou kopurifikovat RNA, pokud je ve vzorku přítomna. Chcete-li minimalizovat obsah RNA ve vzorku, přidejte před zahájením postupu do vzorku RNázu A. Konečná koncentrace RNázy A by měla být 2 mg/ml.

Omezení a interferující látky

Vzorky krve s vysokou koncentrací triglyceridů (> 30 g/l) mohou vést ke snížení výtěžnosti gDNA.

Poznámka: Testování bylo provedeno pomocí příkladných následných aplikací pro posouzení kvality extrahovaných nukleových kyselin. Různé navazující aplikace však mohou mít různé požadavky na čistotu (tj. nepřítomnost potenciálních interferujících látek), takže identifikace a testování příslušných látek musí být rovněž stanoveny jako součást vývoje navazující aplikace pro jakýkoli pracovní postup zahrnující sadu QIAsymphony DSP DNA Midi Kit.

Poznámka**:** Vezměte prosím na vědomí, že během vývoje soupravy QIAsymphony DSP DNA Midi Kit nebyly pozorovány žádné známky toho, že by heparin měl negativní vliv na výkon. Norma ISO 20186-2:2019(E) uvádí, že heparin ze zkumavek na odběr krve může ovlivnit čistotu izolovaných nukleových kyselin a případný přenos do eluátů by mohl způsobit inhibici v některých následných aplikacích. Je proto na odpovědnosti uživatele, aby ověřil, zda má heparin negativní vliv na jeho pracovní postup.

Symboly

V tomto dokumentu se vyskytují následující symboly. Úplný seznam symbolů použitých v návodu k použití nebo na obalu a označení naleznete v příručce.

Symbol	Definice symbolu
CE	Tento výrobek splňuje požadavky evropského nařízení 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro.
IVD	Zdravotnický prostředek k diagnostice in vitro
REF	Katalogové číslo
Rn	R znamená revizi návodu k použití a n je číslo revize
	Výrobce

Historie revizí

Revize	Popis
R1, červen 2022	Verze 2, revize 1 • Aktualizace na verzi 2 kvůli souladu s nařízením IVD • Doplnění oddílu Omezení a interferující látky • Přidání oddílu Uchovávání eluátů • Přidání oddílu Symboly • Aktualizace oddílu Příprava materiálu vzorků

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

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (skupina QIAGEN). Registrované názvy, ochranné známky atd. použité v tomto dokumentu, i když nejsou výslovně takto označeny, nelze považovat za nechráněné zákonem.
06/2022 HB-3029-S03-001 © 2022 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.