



2022. június

# QIASymphony® DSP DNA Midi Kit használati útmutató (Protokoll lap)

DNA\_Blood\_400\_V6\_DSP protokoll

2. verzió



In vitro diagnosztikai használatra

A QIASymphony DSP DNA Midi Kit készletekkel való használatra (96)



REF

937255



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Németország

R1

A protokoll lap elektronikus formátumban áll rendelkezésre, és a [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.

## Általános információk

A QIASymphony DSP DNA Kit in vitro diagnosztikai használatra szolgál.

Ez a protokoll a friss vagy fagyasztott humán teljes vérből származó összes genomális és mitokondriális DNS megtisztítására szolgál QIASymphony SP készülék és QIASymphony DSP DNA Midi Kit alkalmazásával.

|   |  |
|---|--|
| <b>Kit</b>  | QIASymphony DSP DNA Midi Kit (katalógusszám: 937255)                 |
| <b>Mintaanyag</b>   | Humán teljes vér (EDTA-val, citráttal vagy heparinnal alvadásgátolt) |
| <b>Protokoll neve</b>                                     | DNA_Blood_400_V6_DSP   |
| <b>Alapértelmezett assay-kontrollkészlet</b>              | ACS_Blood_400_V6_DSP   |
| <b>Szerkeszthető</b>                                      | Elúciós térfogat: 100, 200 és 400 µl                                 |
| <b>Szükséges szoftververzió</b>                           | 4.0-s vagy későbbi verzió  |
| <b>Szükséges szoftverkonfiguráció IVD felhasználáshoz</b> | 1. alapértelmezett profil  |

## „Sample” (Minta) fiók

|                               |  |
|-------------------------------|--|
| <b>Mintatípus</b>             | Humán teljes vér (EDTA-val, citráttal vagy heparinnal alvadásgátolt)   |
| <b>Mintatérfogat</b>          | Az alkalmazott mintacső típusától függ; a további információkat lásd a laborszerek listáján, amely a <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el. |
| <b>Elődleges mintacsövek</b>  | A további információkat lásd a laborszerek listáján, amely a <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.   |
| <b>Másodlagos mintacsövek</b> | A további információkat lásd a laborszerek listáján, amely a <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.   |
| <b>Inzertek</b>               | Az alkalmazott mintacső típusától függ; a további információkat lásd a laborszerek listáján, amely a <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el. |

## „Reagents and Consumables” (Reagenskék és fogyóeszközök) fiók

|                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| <b>A1 és/vagy A2 pozíció</b>        | Reagenskazetta (RC)   |
| <b>B1 pozíció</b>                   | n.a.  |
| <b>Hegyalvány-tartó, 1–17.</b>      | Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 200 vagy 1500 µl                   |
| <b>1–4. számú egységdoboz-tartó</b> | Minta-előkészítő kazettákat vagy 8-Rod Covers burkolatokat tartalmazó egységdobozok |

n.a. = nem alkalmazható.

## „Waste” (Hulladék) fiók

|  |                                      |
|--|--------------------------------------|
| <b>1–4. számú egységdoboz-tartó</b>            | Üres egységdobozok                   |
| <b>Hulladékgyűjtő zsák tartója</b>             | Hulladékgyűjtő zsák                  |
| <b>Folyékonyhulladék-gyűjtő palack tartója</b> | Üres folyékonyhulladék-gyűjtő palack |

## „Eluate” (Eluátum) fiók

Elúciós állvány (az 1. nyílás, hűtő pozíció alkalmazását javasoljuk)

A további információkat lásd a laboreszközök listáján, amely a [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.

## Szükséges műanyag eszközök

| Műanyag eszköz                                | Egy köteg,<br>24 minta* | Két köteg,<br>48 minta* | Három köteg,<br>72 minta* | Négy köteg,<br>96 minta* |
|---|-------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Disposable filter-tips, 200 µl <sup>†‡</sup>  | 4                       | 4                       | 4                         | 8                        |
| Disposable filter-tips, 1500 µl <sup>†‡</sup> | 110                     | 212                     | 314                       | 424                      |
| Sample prep cartridges <sup>§</sup>           | 18                      | 36                      | 54                        | 72                       |
| 8-Rod Covers <sup>¶</sup>                     | 3                       | 6                       | 9                         | 12                       |

\* Ha kötegenként 24-nél kevesebb mintát használ, csökken a futtatásonként szükséges egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek száma.

<sup>†</sup> Egy hegytartó állványon 32 darab szűrővel rendelkező hegy van.

<sup>‡</sup> Szűrővel rendelkező hegyek száma reagenskazettánként, az 1 leltárellenőrzéshez szükséges szűrővel rendelkező hegyeket is beleszámítva.

<sup>§</sup> Egy egységdoboz 28 minta-előkészítő kazettát tartalmaz.

<sup>¶</sup> Egy egységdoboz tizenkét 8-Rod Covers burkolatot tartalmaz.

**Megjegyzés:** A beállítások függvényében a szűrővel rendelkező hegyek megadott száma eltérhet az érintőképernyőn megjelenített számoktól. A lehető legnagyobb számú hegy betöltését javasoljuk.

## Elúciós térfogat

Az elúciós térfogat ki van választva az érintőképernyőn. A minta típusától és DNS-tartalmától függően a végső eluátum akár 15 µl-rel is kevesebb lehet, mint a kiválasztott térfogat. Mivel az eluátum térfogata változhat, javasoljuk, hogy az átvitelt megelőzően az eluátum térfogatát nem ellenőrző automata assay-beállítási rendszer alkalmazása esetén ellenőrizzék a tényleges eluátumtérfogatot. A kisebb térfogattal végzett eluálás növeli a végső DNS-koncentrációt, de kissé csökkenti a hozamot. A tervezett későbbi („downstream”) alkalmazáshoz megfelelő elúciós térfogat használatát javasoljuk.

## A mintaanyag előkészítése

Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információk a megfelelő biztonsági adatlapokon (Safety Data Sheets, SDS-ek) találhatóak, amelyek az adott termék gyártójától szerezhető be.

Az általános mintagyűjtési, szállítási és tárolási ajánlásokért lásd a jóváhagyott CLSI irányelvet, MM13-A „Minták gyűjtése, szállítása, előkészítése és tárolása molekuláris módszerekhez”. Továbbá, a minta előkészítése, tárolása, szállítása és általános kezelése során be kell tartani a kiválasztott mintavételi eszköz gyártójának utasításait.

A vérvételi cső gyártójának utasításaitól függetlenül a vénás teljes vérből való automatizált gDNS-extrakció során az ISO 20186-2:2019 (E) szabványt kell figyelembe venni.

## Humán teljes vér

EDTA-val, citráttal vagy heparinnal kezelt teljesvér-minták használhatók, amelyek lehetnek frissek vagy fagyasztottak. Friss vérminták elsődleges csövekben történő alkalmazása esetén keverje össze alaposan a vérmintákat (pl. a csövek többszöri megfordításával), mielőtt betöltené őket a QIASymphony SP készülékbe. A fagyasztott mintákat az eljárás megkezdése előtt 37 °C-os vízfürdőben gyorsan ki kell olvasztani, eközben az alapos elkeveredés érdekében enyhe mozzgatás szükséges, majd a mintákat szobahőmérsékletre kell hozni (15–25 °C). A megbízható mintaátvitel érdekében kerülje a hab kialakulását a mintacsövekben. Próbálja meg elkerülni a vérrögök kialakulását a mintákban, illetve ha szükséges, mérje át a mintát egy friss csöbe a vérrögök nélkül.

A hozam és a tisztított DNS minősége a vér tárolási körülményein múlik. A frissebb vérminták jobb eredményeket hozhatnak. Legfeljebb 10 napos, rövid távú tároláshoz a 2–8 °C-on történő tárolás ajánlott. Azonban a maximális fragmentumméretet igénylő alkalmazásokhoz, mint például a southern blot eljárás, csupán legfeljebb 3 napig javasoljuk a 2–8 °C-on történő tárolást, mivel ezt követően kismértékű DNS-bomlás lép fel. Hosszú távú tároláshoz (több mint 10 nap) a vért standard antikoagulánst (lehetőség szerint EDTA-t, ha nagy molekulatömegű DNS-re van szükség) tartalmazó csövekbe gyűjtse, és tárolja -20 °C-on vagy -80 °C-on.

**Megjegyzés:** A minták stabilitása nagymértékben függ különböző tényezőktől, és az adott downstream alkalmazáshoz kapcsolódik. Meghatározását a QIASymphony DSP DNA Midi Kit esetében példa downstream alkalmazásokkal végezték el. A felhasználó felelőssége a laboratóriumban alkalmazott specifikus downstream alkalmazás használati útmutatójának tanulmányozása és/vagy a teljes munkafolyamat validálása a megfelelő tárolási feltételek megállapítása érdekében.

## Az eluátumok tárolása

A futtatás befejeződését követően javasolt haladéktalanul kivenni az eluátumlemezt az „Eluate” (Eluátum) fiókból. Az elúciós lemezek a QIASymphony SP készülékben hagyhatók, miután éjszaka befejeződött a futtatás (legfeljebb 12 óra, beleértve a futtatási időt; javasolt környezeti feltételek: 18–26 °C hőmérséklet és 20–75% relatív páratartalom). A hőmérséklettől és a páratartalomtól függően páralecsapódás vagy párolgás fordulhat elő az eluátumban.

Az eluátumok rövid távon, legfeljebb 2 hétig szobahőmérsékleten tárolhatók. Hosszú távú tárolás esetén 2–8 °C-on, -20 °C-on vagy -80 °C-on történő tárolás javasolt. A fagyasztott eluátumokat legfeljebb háromszor lehet kiolvasztani.

**Megjegyzés:** Az eluátum stabilitása nagymértékben függ különböző tényezőktől, és az adott downstream alkalmazáshoz kapcsolódik. Meghatározását a QIASymphony DSP DNA Midi Kit esetében példa downstream alkalmazásokkal végezték el. A felhasználó felelőssége a laboratóriumban alkalmazott specifikus downstream alkalmazás használati útmutatójának tanulmányozása és/vagy a teljes munkafolyamat validálása a megfelelő tárolási feltételek megállapítása érdekében.

## A kezdés előtt figyelembe veendő fontos szempont

- Előfordulhat, hogy a QIASymphony mágneses részecskéi egyidejűleg az RNS tisztítását is elvégzik, amennyiben jelen van a mintában. A minta RNS-tartalmának csökkentése érdekében az eljárás megkezdése előtt adjon RNase A-t a mintához. A végső RNase A koncentrációnak 2 mg/ml-nek kell lennie.

## Korlátozások és zavaró anyagok





A vérmintákban a trigliceridek magas koncentrációja (>30 g/l) csökkent gDNS-hozamot okozhat.

**Megjegyzés:** A vizsgálatot példa downstream alkalmazásokkal végezték az extrahált nukleinsavak minőségének értékelése érdekében. Azonban az eltérő downstream alkalmazásokhoz eltérő tisztaságra lehet szükség (pl. a potenciálisan zavaró anyagok hiánya), ezért az adott anyagok azonosítása és vizsgálata szükséges a downstream alkalmazás kidolgozása során, a QIASymphony DSP DNA Midi Kitet alkalmazó munkafolyamatok esetében.

**Megjegyzés:** Vegye figyelembe, hogy a QIASymphony DSP DNA Midi Kit kidolgozása során nem figyeltek meg arra utaló jelet, hogy a heparin negatívan befolyásolja a teljesítményt. Azonban az ISO 20186-2:2019(E) szabvány kimondja, hogy a vérvételi csövekben lévő heparin befolyásolhatja az izolált nukleinsavak tisztaságát, és annak átszennyezése az eluátumba gátlást okozhat egyes downstream alkalmazások esetében. Ezért a felhasználó felelőssége annak validálása, hogy a heparin negatívan befolyásolja-e a munkafolyamatot.

## Szimbólumok

A dokumentumban az alábbi szimbólumok szerepelnek. A használati útmutatóban vagy a csomagoláson és címkéken használt szimbólumok teljes listáját lásd a kézikönyvben.

| Szimbólum   | A szimbólum meghatározása  |
|---|--|
|  | Ez a termék megfelel az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökre vonatkozó 2017/746 számú európai rendelet követelményeinek. |
|  | In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz   |
|  | Katalógusszám  |
| Rn  | Az R a Használati útmutató átdolgozását, az n pedig az átdolgozás számát jelöli  |
|  | Gyártó   |

## Átdolgozási előzmények

### Átdolgozás

R1, 2022. június

### Leírás

2. verzió, 1. átdolgozás

- Frissítés a 2. verzióra az IVD megfelelőséghez
- Korlátozások és zavaró anyagok című rész hozzáadása
- Az eluátumok tárolása című rész hozzáadása
- Szimbólumok című rész hozzáadása
- A mintaanyag előkészítése című rész frissítése

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN® kit kézikönyvében vagy felhasználói útmutatójában található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói kézikönyvei a [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) webhelyen érhetők el, illetve a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

Védjegyek: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN csoport). A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvény védelméen kívül esőnek, ha nincsenek külön jelöléssel ellátva. 06/2022 HB-3029-S02-001© 2022 QIAGEN, minden jog fenntartva.