



2022. június

QIAsymphony® DSP DNA Midi Kit használati útmutató (Protokoll lap)

DNA_Buffy_Coat_400_V6 DSP protokoll

2. verzió



In vitro diagnosztikai használatra

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



937255



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Németország

R1

A protokoll lap elektronikus formátumban áll rendelkezésre, és a 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.

Kit	QIASymphony DSP DNA Midi Kit (katalógusszám: 937255)
Mintaanyag	Buffy coat (EDTA-val, citráttal vagy heparinnal alvadásgátolt)
Protokoll neve	DNA_BC_400_V6_DSP
Alapértelmezett assay-kontrollkészlet	ACS_BC_400_V6_DSP
Szerkeszthető	Elúciós térfogat: 200 és 400 µl
Szükséges szoftververzió	4.0-s vagy későbbi verzió
Szükséges szoftverkonfiguráció IVD felhasználáshoz	1. alapértelmezett profil

„Sample” (Minta) fiók

Mintatípus	Humán teljes vér (EDTA-val, citráttal vagy heparinnal alvadásgátolt)
Mintatérfogat	Az alkalmazott mintacső típusától függ; a további információkat lásd a laborszerek listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.
Elsődleges mintacsövek	n.a.
Másodlagos mintacsövek	A további információkat lásd a laborszerek listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.
Inzertek	Az alkalmazott mintacső típusától függ; a további információkat lásd a laborszerek listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.

n.a. = nem alkalmazható.

„Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiók

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

n.a. = nem alkalmazható.

„Waste” (Hulladék) fiók

1–4. számú egységdoboz-tartó	Üres egységdobozok
Hulladékgyűjtő zsák tartója	Hulladékgyűjtő zsák
Folyékonyhulladék-gyűjtő palack tartója	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 weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.

Szükséges műanyag eszközök

Műanyag eszköz	Egy köteg, 24 minta*	Két köteg, 48 minta*	Három köteg, 72 minta*	Négy köteg, 96 minta*
Disposable filter-tips, 200 µl ^{†‡}	4	4	4	8
Disposable filter-tips, 1500 µl ^{†‡}	110	212	314	424
Sample prep cartridges [§]	18	36	54	72
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

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

[†] Egy hegytartó állványon 32 darab szűrővel rendelkező hegy van.

[‡] Szűrővel rendelkező hegyek száma reagenskazettánként, az 1 leltárellenőrzéshez szükséges szűrővel rendelkező hegyeket is beleszámítva.

[§] Egy egységdoboz 28 minta-előkészítő kazettát tartalmaz.

[¶] 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.

Buffy coat

A buffy coat a teljes vér fehérvérsejtekben gazdag frakciója. A fehérvérsejt-dúsítás hatékonysága a buffy coat készítésére alkalmazott eljárástól, valamint a buffy coat réteg kinyerésének pontosságától függ. A buffy coat elkészítéséhez centrifugálja a standard antikoagulánst (EDTA, citrát vagy heparin) tartalmazó teljesvér-mintát 900–1100 × g-vel 10 percig szobahőmérsékleten (15–25 °C). A centrifugálás után 3 különböző frakciót lehet megkülönböztetni: a felső áttetsző réteg a plazma; a középső réteg a fehérvérsejtek koncentráltan tartalmazó buffy coat; az alsó réteg pedig koncentrált vörösvérsejteket tartalmaz. 10 ml centrifugált teljes vérből hozzávetőleg 1 ml fehérvérsejtben gazdag frakciót lehet kinyerni, amely átlagosan 5–6-szoros dúsításnak felel meg. Például 10 ml 6×10^6 sejt/ml fehérvérsejtszámú teljes vérből 1 ml buffy coat nyerhető ki. A fehérvérsejtek 5-szörös dúsításával számolva ez 3×10^7 sejt/ml-t ad. Következésképp egy 400 µl buffy coatot alkalmazó protokollban $1,2 \times 10^7$ sejt kerül felhasználásra.

A DNS-tisztítási eljárás túlterhelésének elkerülése érdekében ne készítsen >10-szeres dúsítású buffy coat mintákat. Ha a buffy coat minták dúsítása >10-szeres, hígítsa a mintákat PBS-sel 10-szeres vagy annál kisebb dúsításig, vagy használjon kevesebb kiindulási anyagot a DNS-tisztítási eljárás során.

A buffy coat minták felhasználhatók azonnal, vagy későbbi időpontban végzett DNS-tisztításhoz -20 °C-on vagy -80 °C-on tárolhatók. A fagyasztott mintákat az eljárás megkezdése előtt 37 °C-os vízfürdőben gyorsan ki kell olvasztani, eközben az alapos elkeveredés érdekében enyhe mozgatás 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 csőbe a vérrögök nélkül.

Megjegyzés: A minták stabilitása nagymértékben függ különböző tényezőktől, és az adott downstream alkalmazáshoz kapcsolódik. 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 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-S05-001© 2022 QIAGEN, minden jog fenntartva.