

Φύλλο Πρωτοκόλλου QIASymphony SP

Tissue_LC_200_V7_DSP και Tissue_HC_200_V7_DSP

Γενικές πληροφορίες

Για διαγνωστική χρήση in vitro.

Αυτά τα πρωτόκολλα αφορούν τον καθαρισμό ολικού DNA από ιστούς μονιμοποιημένους σε φορμόλη και εγκλεισμένους σε παραφίνη (FFPE) με χρήση του QIASymphony® SP και του κιτ QIASymphony DSP DNA Mini. Τα πρωτόκολλα για κύτταρα καλλιέργειας και καλλιέργειες βακτηριδίων βρίσκονται σε εξέλιξη και θα είναι διαθέσιμα σύντομα.

Ανάλογα με τον τύπο ιστού, συνιστούμε τη χρήση είτε του πρωτοκόλλου χαμηλής περιεκτικότητας (LC) είτε του πρωτοκόλλου υψηλής περιεκτικότητας (HC). Οι ιστοί θα έχουν αυξημένες αποδόσεις DNA εάν υποβληθούν σε επεξεργασία με το πρωτόκολλο υψηλής περιεκτικότητας, ενδεχομένως όμως θα χρειαστεί να χρησιμοποιήσετε το πρωτόκολλο χαμηλής περιεκτικότητας εάν απαιτείται υψηλή συγκέντρωση DNA σε συνδυασμό με χαμηλό όγκο έκλουσης (50 µl). Για ιστούς FFPE συνιστούμε τη χρήση του πρωτοκόλλου χαμηλής περιεκτικότητας.

Πρωτόκολλο χαμηλής περιεκτικότητας

Κιτ	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (αρ. καταλ. 937236)
Υλικό δειγμάτων	Ιστός FFPE και ιστός* Σε μία προετοιμασία μπορούν να συνδυαστούν έως και 4 τομές ιστού FFPE, πάχους έως 10 µm έκαστη ή 8 τομές, πάχους έως 5 µm έκαστη και επιφάνεια έως 250 mm ² .
Ονομασία πρωτοκόλλου	Tissue_LC_200_V7_DSP
Προκαθορισμένο σετ μαρτύρων προσδιορισμού	ACS_Tissue_LC_200_V7_DSP
Όγκος έκλουσης	50 µl, 100 µl, 200 µl ή 400 µl
Απαιτούμενη έκδοση λογισμικού	Έκδοση 4,0

* Ανατρέξτε στο πρωτόκολλο υψηλής περιεκτικότητας για πληροφορίες σχετικά με τα δείγματα ιστού.

Απρίλιος 2012



Sample & Assay Technologies

Πρωτόκολλο υψηλής περιεκτικότητας

Κιτ	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (αρ. καταλ. 937236)
Υλικό δειγμάτων	Ιστός Εάν δεν διατίθενται πληροφορίες σχετικά με την αναμενόμενη απόδοση, συνιστούμε να ξεκινήσετε με 25 mg δείγματος. Ανάλογα με την επιτευχθείσα απόδοση μπορείτε να αυξήσετε την ποσότητα του δείγματος στις επόμενες προετοιμασίες.
Ονομασία πρωτοκόλλου	Tissue_HC_200_V7_DSP
Προκαθορισμένο σετ μαρτύρων προσδιορισμού	ACS_Tissue_HC_200_V7_DSP
Όγκος έκλουσης	100 μl, 200 μl ή 400 μl
Απαιτούμενη έκδοση λογισμικού	Έκδοση 4,0

Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

Για όλους τους τύπους δειγμάτων

- Ρυθμιστικό διάλυμα ATL, 4 x 50 ml (Buffer ATL, 4 x 50 ml, αρ. καταλ. 939016)
- Εάν απαιτείται DNA ελεύθερο από RNA: RNάση A ελεύθερη DNάσης (πρωτογενές διάλυμα 100 mg/ml)

Για ιστό FFPE (αποπαραφίνωση χωρίς ξυλένιο)

- Διάλυμα αποπαραφίνωσης (αρ. καταλ. 939018)

Για ιστό FFPE (αποπαραφίνωση με ξυλένιο)

- Ξυλένιο (99–100%)
- Αιθανόλη (96–100%)*

* Μην χρησιμοποιείτε μετουσιωμένη αλκοόλη, η οποία περιέχει πρόσθετες ουσίες όπως μεθανόλη ή μεθυλαιθυλοκετόνη.

Συρτάρι "Sample" (δείγμα)

Τύπος δείγματος	Ιστός FFPE και ιστός*
Όγκος εισαγόμενου δείγματος	220 μλ (απαιτούνται ανά δείγμα, ανά πρωτόκολλο)*
Όγκος δείγματος που υποβάλλεται σε επεξεργασία	200 μλ
Πρώτα δείγματος σωληνάρια	δεν εφαρμ.
Δεύτερα δείγματος σωληνάρια	Βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks για περισσότερες πληροφορίες.
Ένθετα	Εξαρτάται από τον τύπο σωληναρίου δείγματος που χρησιμοποιείται. Για περισσότερες πληροφορίες, βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

* Το σύστημα δεν μπορεί να διαπιστώσει εάν ο όγκος δείγματος είναι μικρότερος από 220 μλ, διότι η μεταφορά δείγματος των πρωτοκόλλων υψηλής και χαμηλής περιεκτικότητας πραγματοποιείται χωρίς ανίχνευση στάθμης υγρού. Επομένως πρέπει να διασφαλιστεί όγκος εισαγόμενου δείγματος 220 μλ.

δεν εφαρμ. = δεν εφαρμόζεται.

Συρτάρι "Reagents and Consumables" (αντιδραστήρια και αναλώσιμα)

Θέση A1 και/ή A2	Φύσιγγα αντιδραστηρίων
Θέση B1	δεν εφαρμ.
Στήριγμα θήκης ρυγχών 1-17	Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 μλ ή 1500 μλ
Στήριγμα κουτιού μονάδων 1-4	Κουτιά μονάδων που περιέχουν φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων ή περιβλήματα 8 ράβδων

δεν εφαρμ. = δεν εφαρμόζεται.

Συρτάρι "Waste" (απόβλητα)

Στήριγμα κουτιού μονάδων 1-4	Κενά κουτιά μονάδων
Στήριγμα αποβλήτων σακούλας	Σακούλα αποβλήτων
Στήριγμα φιάλης υγρών αποβλήτων	Κενή φιάλη υγρών αποβλήτων

Συρτάρι "Eluate" (έκλουσμα)

Θήκη έκλουσης (συνιστούμε τη χρήση της υποδοχής 1, θέση ψύξης)	Βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks για περισσότερες πληροφορίες.
--	--

Απαιτούμενα πλαστικά υλικά

	Μία παρτίδα, 24 δείγματα*	Δύο παρτίδες, 48 δείγματα*	Τρεις παρτίδες, 72 δείγματα*	Τέσσερις παρτίδες, 96 δείγματα*
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 μl ^{†‡}	26	50	74	98
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 1500 μl ^{†‡}	72	136	200	264
Φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων [§]	21	42	63	84
Περιβλήματα 8 ράβδων [¶]	3	6	9	12

* Η χρήση λιγότερων από 24 δείγματα ανά παρτίδα μειώνει τον αριθμό των αναλώσιμων ρυγχών φίλτρου που απαιτούνται ανά εκτέλεση.

† Κάθε θήκη ρυγχών φίλτρου περιέχει 32 ρύγχη φίλτρου.

‡ Ο αριθμός των απαιτούμενων ρυγχών φίλτρου περιλαμβάνει ρύγχη φίλτρου για 1 σάρωση υλικού ανά φύσιγγα αντιδραστηρίων.

§ Κάθε κουτί μονάδων περιέχει 28 φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων.

¶ Κάθε κουτί μονάδων περιέχει δώδεκα περιβλήματα 8 ράβδων.

Σημείωση: Ανάλογα με τις εκάστοτε ρυθμίσεις, οι αριθμοί των ρυγχών φίλτρου ενδέχεται να διαφέρουν από εκείνους που προβάλλονται στην οθόνη αφής. Συνιστούμε τη φόρτωση του μέγιστου δυνατού αριθμού ρυγχών.

Όγκος έκλουσης

Ο όγκος έκλουσης επιλέγεται στην οθόνη αφής. Ανάλογα με τον τύπο δείγματος και την περιεκτικότητα σε DNA, ο τελικός όγκος εκλούσματος μπορεί να είναι έως και 15 μl μικρότερος από τον επιλεγμένο όγκο. Λόγω των ενδεχόμενων αποκλίσεων του όγκου εκλούσματος, συνιστούμε τον έλεγχο του πραγματικού όγκου εκλούσματος όταν χρησιμοποιείτε αυτοματοποιημένο σύστημα ρύθμισης παραμέτρων προσδιορισμού που δεν επαληθεύει τον όγκο εκλούσματος πριν την μεταφορά. Η έκλουση σε μικρότερους όγκους αυξάνει την τελική συγκέντρωση DNA, μειώνει ωστόσο ελαφρά την απόδοση. Συνιστούμε τη χρήση κατάλληλου όγκου έκλουσης για την προοριζόμενη καθοδική (downstream) εφαρμογή.

Προετοιμασία του δείγματος

Όταν εργάζεστε με χημικά θα πρέπει πάντοτε να φοράτε προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας υλικού (MSDS), τα οποία και είναι διαθέσιμα από τον προμηθευτή του προϊόντος.

Σημαντική υπόδειξη πριν από την έναρξη

- Τα μαγνητικά σωματίδια QIASymphony καθαρίζουν παράλληλα RNA και DNA, εάν υπάρχουν αμφότερα στο δείγμα. Εάν απαιτείται DNA ελεύθερο από RNA, προσθέστε RNάση A στο δείγμα, κατά τη διάρκεια του βήματος που επισημαίνεται στο σχετικό πρωτόκολλο προκαταρκτικής επεξεργασίας.

Απαραίτητες ενέργειες πριν από την έναρξη

- Ελέγξτε το ρυθμιστικό διάλυμα ATL ως προς την παρουσία λευκού ιζήματος. Εάν είναι απαραίτητο, επώαστε για 30 λεπτά στους 37°C με περιστασιακή ανακίνηση για την διάλυση του ιζήματος.
- Ρυθμίστε ένα θερμομίκτη ή μία συσκευή ανακίνησης-επώασης στην απαιτούμενη θερμοκρασία για την σχετική προκαταρκτική επεξεργασία.

Ιστοί

Για τον καθαρισμό του DNA μπορεί να χρησιμοποιηθεί νωπός και κατεψυγμένος ιστός. Η απόδοση και η ποιότητα του DNA που θα ληφθεί εξαρτάται από τον τύπο, την προέλευση και τις συνθήκες φύλαξης του ιστού. Ο νωπός ιστός μπορεί να κοπεί σε μικρά τεμάχια και να φυλαχθεί στους -20°C ή -80°C πριν από την επεξεργασία. Γενικά συνιστούμε τη χρήση του πρωτοκόλλου υψηλής περιεκτικότητας, το οποίο και παρέχει αυξημένες αποδόσεις DNA. Το πρωτόκολλο

χαμηλής περιεκτικότητας, σε συνδυασμό με τον όγκο έκλουσης των 50 μl συνιστάται μόνο εάν απαιτούνται υψηλές συγκεντρώσεις DNA για καθοδική ανάλυση. Εάν δεν υπάρχουν διαθέσιμες πληροφορίες σχετικά με την αναμενόμενη απόδοση, συνιστούμε να ξεκινήσετε με 25 mg δείγματος με χρήση του πρωτοκόλλου υψηλής περιεκτικότητας και όγκο έκλουσης 200 μl. Ανάλογα με την επιτευχθείσα απόδοση μπορείτε να αυξήσετε τον όγκο του δείγματος ή να μειώσετε τον όγκο έκλουσης στις επόμενες προετοιμασίες. Λάβετε υπόψη πως η υπερφόρτωση προετοιμασιών σε συνδυασμό με μικρούς όγκους έκλουσης μπορεί να οδηγήσει σε μεταφορά μαγνητικών σωματιδίων εντός του εκλούσματος, έχοντας δυσμενείς συνέπειες στην καθαρότητα του DNA και στην καθοδική ανάλυση.

Πρωτόκολλο προκαταρκτικής επεξεργασίας για ιστούς

1. **Μεταφέρετε το δείγμα ιστού σε σωληνάριο μικροφυγόκεντρου 2 ml (δεν παρέχεται).**

2. **Προσθέστε 220 μl ρυθμιστικού διαλύματος ATL.**

3. **Προσθέστε 20 μl πρωτεϊνάσης K και αναμείξτε με ήπια πλήξη του σωληναρίου.**

Σημείωση: Χρησιμοποιήστε πρωτεϊνάση K από τη θήκη ενζύμων του kit QIASymphony DSP DNA Mini.

4. **Τοποθετήστε το σωληνάριο σε θερμομίκτη ή συσκευή ανακίνησης-επώασης και επώαστε στους 56°C με ανακίνηση στις 900 σ.α.λ. (ή ώσπου να επιτευχθεί πλήρης λύση του ιστού).**

Σημείωση: Ο χρόνος λύσης εξαρτάται από τον τύπο ιστού που υποβάλλεται σε επεξεργασία. Η λύση των περισσότερων ιστών ολοκληρώνεται εντός 3 ωρών. Εάν η λύση δεν έχει ολοκληρωθεί εντός 3 ωρών, γεγονός που υποδεικνύεται από την παρουσία αδιάλυτου υλικού ή διαλυμάτων λύσης υψηλού ιζώδους, μπορεί να παραταθεί ο χρόνος λύσης ή να αφαιρεθεί το αδιάλυτο υλικό με φυγοκέντριση, σύμφωνα με την περιγραφή στο βήμα 6. Η λύση κατά τη διάρκεια της νύχτας επιτρέπεται και δεν επηρεάζει την προετοιμασία.

5. **Εάν απαιτείται γονιδιωματικό DNA ελεύθερο από RNA, προσθέστε 4 μl RNάσης A (100 mg/ml) και επώαστε για 2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) προτού συνεχίσετε στο βήμα 6.**

6. **Ομογενοποιήστε το δείγμα με επαναλαμβανόμενη αναρρόφηση/εξώθηση με πιπέτα.**

Σημείωση: Εάν παραμένουν τεμάχια αδιάλυτου υλικού, φυγοκεντρίστε σε 3000 x g για 1 λεπτό.

7. **Μεταφέρετε προσεκτικά 220 μl του υπερκείμενου σε σωληνάκια δείγματος που είναι συμβατά με το φορέα δειγμάτων του QIASymphony SP.**

Για τον πλήρη κατάλογο των συμβατών σωληναρίων δείγματος, βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Συνιστούμε τη χρήση σωληναρίων των 2 ml (π.χ. Sarstedt, αρ. καταλόγου 72.693 ή 72.608).

Ιστός FFPE

Οι τυπικές διαδικασίες μονιμοποίησης σε φορμόλη και έγκλεισης σε παραφίνη οδηγούν πάντοτε σε σημαντικό κατακερματισμό νουκλεϊκών οξέων. Για να περιορίσετε την έκταση του κατακερματισμού του DNA, διασφαλίστε τα εξής:

- Μονιμοποιήστε τα δείγματα ιστού σε φορμόλη 4–10% το συντομότερο δυνατό μετά τη χειρουργική αφαίρεση
- Εφαρμόστε χρόνο μονιμοποίησης 14–24 ωρών (οι μεγαλύτεροι χρόνοι μονιμοποίησης επιδεινώνουν τον κατακερματισμό του DNA, οδηγώντας σε πτωχή απόδοση σε καθοδικούς προσδιορισμούς)
- Αφυδατώστε σχολαστικά τα δείγματα πριν από την έγκλειση (η παραμένουσα φορμόλη μπορεί να αναστείλει την πεπτική δράση της πρωτεΐνης K)

Το υλικό εκκίνησης για τον καθαρισμό του DNA θα πρέπει να είναι πρόσφατες τομές ιστού FFPE. Σε μία προετοιμασία μπορούν να υποβληθούν σε επεξεργασία έως και 4 τομές, πάχους έως 10 µm έκαστη ή έως και 8 τομές, πάχους έως 5 µm έκαστη και επιφάνεια έως 250 mm². Εάν δεν έχετε πληροφορίες σχετικά με τη φύση του υλικού εκκίνησης, συνιστούμε να ξεκινήσετε χρησιμοποιώντας όχι περισσότερες από 3 τομές σε μία προετοιμασία. Ανάλογα με την απόδοση και την καθαρότητα του DNA, ενδεχομένως να μπορούν να χρησιμοποιηθούν έως και 8 τομές στις επόμενες προετοιμασίες.

Πρωτόκολλο προκαταρκτικής επεξεργασίας για ιστούς FFPE

Αποπαραφίνωση με διάλυμα αποπαραφίνωσης

1. Χρησιμοποιώντας ένα νυστέρι, αποκόψτε την περίσσεια παραφίνης από το μπλοκ του δείγματος.
2. Δημιουργήστε έως και 4 τομές πάχους 10 µm ή έως και 8 τομές πάχους 5 µm.
Σημείωση: Εάν η επιφάνεια του δείγματος έχει εκτεθεί στον αέρα, απορρίψτε τις πρώτες 2–3 τομές.
3. Τοποθετήστε αμέσως τις τομές σε σωληνάριο Sarstedt των 2 ml (δεν παρέχεται, αρ. καταλ 72.693 ή 72.608), συμβατό με τον φορέα δειγμάτων του QIASymphony SP.
4. Προσθέστε 200 µl ρυθμιστικού διαλύματος ATL στις τομές.
5. Προσθέστε 20 µl πρωτεΐνης K.
Σημείωση: Χρησιμοποιήστε πρωτεΐνη K από τη θήκη ενζύμων του kit QIASymphony DSP DNA Mini.
6. Προσθέστε 160 µl ή 320 µl διαλύματος αποπαραφίνωσης (βλ. παρακάτω πίνακα) και αναμίξτε με ανάδευση.

Πάχος τομών	Αριθμός τομών	Όγκος διαλύματος αποπαραφίνωσης
5 μm	1–4	160 μl
	5–8	320 μl
10 μm	1–2	160 μl
	3–4	320 μl

7. Τοποθετήστε το σωληνάριο σε θερμομίκτη ή συσκευή ανακίνησης–επώασης και επωάστε στους 56°C για 1 ώρα με ανακίνηση στις 1000 σ.α.λ., ώσπου να επιτευχθεί πλήρης λύση του ιστού.

Σημείωση: Ο χρόνος λύσης εξαρτάται από τον τύπο ιστού που υποβάλλεται σε επεξεργασία. Η λύση των περισσότερων ιστών ολοκληρώνεται εντός 1 ώρας. Εάν η λύση δεν έχει ολοκληρωθεί εντός 1 ώρας, γεγονός που υποδεικνύεται από την παρουσία αδιάλυτου υλικού, μπορεί να παραταθεί ο χρόνος λύσης ή να προκληθεί καθίζηση του αδιάλυτου υλικού με φυγοκέντριση, σύμφωνα με την περιγραφή στο βήμα 10. Η λύση κατά τη διάρκεια της νύχτας επιτρέπεται και δεν επηρεάζει την προετοιμασία.

8. Επωάστε στους 90°C για 1 ώρα.

Σημείωση: Η επώαση στους 90°C σε ρυθμιστικό διάλυμα ATL αναστρέφει μερικώς τις τροποποιήσεις που επέφερε η φορμαλδεΰδη στα νουκλεϊκά οξέα. Οι μεγαλύτεροι χρόνοι επώασης ή οι υψηλότερες θερμοκρασίες επώασης μπορούν να οδηγήσουν σε περαιτέρω κατακερματισμό του DNA. Εάν χρησιμοποιείτε μόνο ένα θερμικό μπλοκ, αφήστε το δείγμα σε θερμοκρασία δωματίου μετά την επώαση στους 56°C, ώσπου το θερμικό μπλοκ να φτάσει στους 90°C.

9. Εάν απαιτείται γονιδιωματικό DNA ελεύθερο από RNA, προσθέστε 2 μl RNάσης A (100 mg/ml) στην κατώτερη φάση και επωάστε για 2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου προτού συνεχίσετε στο βήμα 10. Αφήστε το δείγμα να επανέλθει σε θερμοκρασία δωματίου προτού προσθέσετε RNάση A.
10. Φυγοκεντρίστε με πλήρη ταχύτητα για 1 λεπτό, σε θερμοκρασία δωματίου.
11. Μεταφέρετε προσεκτικά τα σωληνάκια (που περιέχουν και τις δύο φάσεις) στο φορέα δειγμάτων του QIAasympphony SP.

Αποπαραφίνωση με χρήση ξυλενίου

1. Χρησιμοποιώντας ένα νυστέρι, αποκόψτε την περίσσεια παραφίνης από το μπλοκ του δείγματος.
2. Δημιουργήστε έως και 4 τομές πάχους 10 μm ή έως και 8 τομές πάχους 5 μm.
- Σημείωση:** Εάν η επιφάνεια του δείγματος έχει εκτεθεί στον αέρα, απορρίψτε τις πρώτες 2–3 τομές.

3. Τοποθετήστε αμέσως τις τομές σε σωληνάριο μικροφυγόκεντρου 1,5 ή 2 ml (δεν παρέχεται), και προσθέστε 1 ml ξυλενίου στο δείγμα. Κλείστε το κάλυμμα και αναδεύστε έντονα για 10 δευτερόλεπτα.
4. Φυγοκεντρίστε με πλήρη ταχύτητα για 2 λεπτά, σε θερμοκρασία δωματίου.
5. Απομακρύνετε το υπερκείμενο με πιπέτα. Αφήστε το ίζημα ανέπαφο.
6. Προσθέστε 1 ml αιθανόλης (96–100%) στο ίζημα και αναμίξτε με ανάδευση.
Σημείωση: Η αιθανόλη εξάγει το παραμένον ξυλενίου από το δείγμα.
7. Φυγοκεντρίστε με πλήρη ταχύτητα για 2 λεπτά, σε θερμοκρασία δωματίου.
8. Απομακρύνετε το υπερκείμενο με πιπέτα. Αφήστε το ίζημα ανέπαφο.
Σημείωση: Απομακρύνετε προσεκτικά τυχόν παραμένον αιθανόλη, χρησιμοποιώντας λεπτό ρύγχος πιπέτας.
9. Ανοίξτε το σωληνάριο και επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) για 10 λεπτά ή ώσπου εξατμιστεί πλήρως η παραμένον αιθανόλη.
Σημείωση: Η επώαση μπορεί να γίνει σε θερμοκρασίες έως 37°C.
10. Ανακαταλείψτε το ίζημα σε 220 ml ρυθμιστικού διαλύματος ATL.
11. Προσθέστε 20 ml πρωτεϊνάσης K και αναμίξτε με ανάδευση.
Σημείωση: Χρησιμοποιήστε πρωτεϊνάση K από τη θήκη ενζύμων του κιτ QIASymphony DSP DNA Mini.
12. Επωάστε στους 56°C για 1 ώρα (ή ώσπου να επιτευχθεί πλήρης λύση του δείγματος).
Σημείωση: Ο χρόνος λύσης εξαρτάται από τον τύπο ιστού που υποβάλλεται σε επεξεργασία. Η λύση των περισσότερων ιστών ολοκληρώνεται εντός 1 ώρας. Εάν η λύση δεν έχει ολοκληρωθεί εντός 1 ώρας, γεγονός που υποδεικνύεται από την παρουσία αδιάλυτου υλικού, μπορεί να παραταθεί ο χρόνος λύσης ή να αφαιρεθεί το αδιάλυτο υλικό με φυγοκέντρωση, σύμφωνα με την περιγραφή στο βήμα 16. Η λύση κατά τη διάρκεια της νύχτας επιτρέπεται και δεν επηρεάζει την προετοιμασία.
13. Επωάστε στους 90°C για 1 ώρα.
Σημείωση: Η επώαση στους 90°C σε ρυθμιστικό διάλυμα ATL αναστρέφει μερικώς τις τροποποιήσεις που επέφερε η φορμαλδεΐδη στα νουκλεϊκά οξέα. Οι μεγαλύτεροι χρόνοι επώασης ή οι υψηλότερες θερμοκρασίες επώασης μπορούν να οδηγήσουν σε περαιτέρω κατακερματισμό του DNA. Εάν χρησιμοποιείτε μόνο ένα θερμικό μπλοκ, αφήστε το δείγμα σε θερμοκρασία δωματίου μετά την επώαση στους 56°C, ώσπου το θερμικό μπλοκ να φτάσει στους 90°C.
14. Φυγοκεντρίστε σύντομα το δείγμα για να απομακρύνετε σταγονίδια από την εσωτερική πλευρά του καλύμματος.
15. Εάν απαιτείται γονιδιωματικό DNA ελεύθερο από RNA, προσθέστε 2 ml RNάσης A (100 mg/ml) και επωάστε για 2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου προτού συνεχίσετε στο βήμα 16. Αφήστε το δείγμα να επανέλθει σε θερμοκρασία δωματίου προτού προσθέσετε RNάση A.

16. Μεταφέρετε προσεκτικά 220 µl του διαλύματος λύσης σε σωληνάρια δείγματος που είναι συμβατά με το φορέα δειγμάτων του QIAasymphony SP.

Σημείωση: Εάν τα διαλύματα λύσης περιέχουν αδιάλυτο υλικό, φυγοκεντρίστε με πλήρη ταχύτητα για 2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου προτού μεταφέρετε το υπερκείμενο σε σωληνάρια δείγματος. Για τον πλήρη κατάλογο των συμβατών σωληναρίων δείγματος, βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Συνιστούμε τη χρήση σωληναρίων των 2 ml (π.χ. Sarstedt, αρ. καταλόγου 72.693 ή 72.608).

Σημείωση: Τα πρωτόκολλα ιστών FFPE έχουν σχεδιαστεί ειδικά ώστε να καθαρίζουν ταυτόχρονα μικρές μόνο ποσότητες RNA. Το γεγονός αυτό θα οδηγήσει σε χαμηλότερη τιμή φωτομετρικής μέτρησης σε σύγκριση με τις τιμές που λαμβάνονται με το χειροκίνητο kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue.

Κύτταρα και βακτήρια καλλιέργειας

Πρωτόκολλα προκαταρκτικής επεξεργασίας για κύτταρα καλλιέργειας και αρνητικά κατά Gram και θετικά κατά Gram βακτήρια καλλιέργειας θα είναι σύντομα διαθέσιμα.

Για τις τρέχουσες πληροφορίες άδειας και αποποιήσεις σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στο σχετικό εγχειρίδιο ή οδηγίες χρήσης του kit QIAGEN. Μπορείτε να ζητήσετε εγχειρίδια της QIAGEN από το τμήμα τεχνικής εξυπηρέτησης της QIAGEN ή τον τοπικό αντιπρόσωπο της QIAGEN. Επιλεγμένα εγχειρίδια είναι διαθέσιμα για λήψη στη διεύθυνση www.qiagen.com/literature. Δελτία δεδομένων ασφάλειας υλικού (MSDS) για κάθε προϊόν της QIAGEN είναι διαθέσιμα για λήψη στη διεύθυνση www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, QIASymphony® (Όμιλος QIAGEN). Οι καταχωρημένες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα κ.λ.π. που χρησιμοποιούνται σε αυτό το έγγραφο, δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευμένα από το νόμο, ακόμη και αν δεν επισημαίνονται ειδικά ως τέτοια.
© 2012 QIAGEN, με την επιφύλαξη κάθε δικαιώματος.

www.qiagen.com

Australia ■ 1-800-243-800

Austria ■ 0800/281010

Belgium ■ 0800-79612

Canada ■ 800-572-9613

China ■ 021-51345678

Denmark ■ 80-885945

Finland ■ 0800-914416

France ■ 01-60-920-930

Germany ■ 02103-29-12000

Hong Kong ■ 800 933 965

Ireland ■ 1800 555 049

Italy ■ 800 787980

Japan ■ 03-5547-0811

Korea (South) ■ 1544 7145

Luxembourg ■ 8002 2076

The Netherlands ■ 0800 0229592

Norway ■ 800-18859

Singapore ■ 65-67775366

Spain ■ 91-630-7050

Sweden ■ 020-790282

Switzerland ■ 055-254-22-11

UK ■ 01293-422-911

USA ■ 800-426-8157



Sample & Assay Technologies