



Haziran 2022

QIAsymphony® DSP DNA Mini Kit Kullanım Talimatları (Protokol Sayfası)

DNA_Buffy_Coat_200_V7 DSP protokolü

Sürüm 2

IVD

İn Vitro Tanı Amaçlı Kullanım İçindir

QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (192) ile kullanım içindir

CE

REF

937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Almanya

R1

Protokol sayfaları elektronik ortamda mevcut olup www.qiagen.com adresinin ürün sayfasındaki kaynaklar sekmesi altında bulunabilir.

Genel bilgiler

QIASymphony DSP DNA Kit'in in vitro tanı amaçlı kullanım için olması amaçlanmıştır.

Bu protokol QIASymphony SP ve QIASymphony DSP DNA Mini Kit kullanarak taze veya donmuş insan tam kanından total genomik ve mitokondriyal DNA saflaştırılması içindir.

Kit	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (kat. no. 937236)
Örnek materyali	Beyaz Kan Hücresi Tabakası (EDTA, sitrat veya heparin ile antikoagüle)
Protokol adı	DNA_BC_200_V7_DSP
Varsayılan Tahlil Kontrol Seti	ACS_BC_200_V7_DSP
Düzenlenebilir	Elüsyon hacmi: 200, 300 ve 400 µl
Gereken yazılım versiyonu	Sürüm 4,0 veya üstü
IVD kullanımı için gerekli yazılım yapılandırması	Varsayılan Profil 1

"Sample" (Örnek) çekmecesi

Örnek tipi	İnsan tam kanı (EDTA, sitrat veya heparin ile antikoagüle)
Örnek hacmi	Kullanılan örnek tüpü tipine bağlıdır; Daha fazla bilgi için www.qiagen.com adresinin ürün sayfasındaki kaynaklar sekmesi altında bulunan laboratuvar gereçleri listesine bakın.
Primer örnek tüpleri	n/a
Sekonder örnek tüpleri	Daha fazla bilgi için www.qiagen.com adresinin ürün sayfasındaki kaynaklar sekmesi altında bulunan laboratuvar gereçleri listesine bakın.
İnsertler	Kullanılan örnek tüpü tipine bağlıdır; Daha fazla bilgi için www.qiagen.com adresinin ürün sayfasındaki kaynaklar sekmesi altında bulunan laboratuvar gereçleri listesine bakın.

n/a = uygulanamaz.

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

Pozisyon A1 ve/veya A2	Reaktif kartuşu (RC)
Pozisyon B1	n/a
Uç askı tutucu 1–17	Tek kullanımlık filtre uçları, 200 veya 1500 µl
Ünite kutusu tutucu 1–4	Örnek hazırlama kartuşları veya 8-Rod Covers 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 kullanılmasını öneririz)

Daha fazla bilgi için www.qiagen.com adresinde ürün sayfasındaki kaynaklar sekmesi altında bulunan laboratuvar gereçleri listesine bakın.

Gerekli plastik gereçler

Plastik gereçler	Bir grup, 24 örnek*	İki grup, 48 örnek*	Üç grup, 72 örnek*	Dört grup, 96 örnek*
Disposable filter-tips, 200 µl†	2	2	2	2
Disposable filter-tips, 1500 µl†	110	212	314	416
Sample prep cartridges§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	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 mevcuttur.

‡ Gereken filtre ucu sayısına reaktif kartuşu (reagent cartridge, RC) başına 1 envanter taraması için filtre uçları dahildir.

§ Ünite kutusu başına 28 örnek hazırlama kartuşu vardır.

¶ Ünite kutusu başına on iki 8-Rod Covers vardır.

Not: Verilen filtre ucu sayısı ayarlara bağlı olarak dokunmatik 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 hacmi değişebileceğinden, aktarma öncesinde elüat hacmini doğrulamayan bir otomatik tahlil kurulumu sistemi kullanılırken fiili elüat hacminin kontrol edilmesi önerilir. 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 daima uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için ürün tedarikçisinden temin edilebilecek uygun güvenlik veri sayfalarına (Safety Data Sheets, SDS'ler) başvurun.

Genel toplama, taşıma ve saklama önerileri için onaylı CLSI kılavuzu MM13-A "Moleküler Yöntemler için Örneklerin Toplanması, Taşınması, Hazırlanması ve Saklanması"na bakın. Ek olarak; üreticinin seçilen örnek toplama cihazına yönelik talimatları örnek hazırlama, saklama, taşıma ve genel kullanım sırasında izlenmelidir.

Beyaz Kan Hücresi Tabakası

Beyaz kan hücresi tabakası, tam kanın lökosit yönünden zengin bir fraksiyonudur. Lökosit yönünden zenginliğin verimi beyaz kan hücresi tabakasının hazırlanması için kullanılan prosedüre ve beyaz kan hücresi tabakasının çıkarılma doğruluğuna bağlı olur. Beyaz kan hücresi tabakasını 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 beyaz kan hücresi tabakasıdır; alttaki tabaka ise konsantre eritrositleri içerir. Ortalama olarak 5-6 kez 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 beyaz kan hücresi tabakası sağlar. Akyuvarların 5 kez seviyesinde zenginleştirildiği varsayıldığında bu, 3×10^7 hücre/ml ile sonuçlanır. Dolayısıyla, 200 µl beyaz kan hücresi tabakası kullanan bir protokolda 6×10^6 hücre kullanılacaktır.

DNA saflaştırma prosedürüne fazla yükleme yapmaktan kaçınmak için 10 kezden fazla zenginleştirmeli beyaz kan hücresi tabakası örnekleri hazırlamayın. Beyaz kan hücresi tabakası örneklerinin 10 kezden fazla zenginleştirmeli olması durumunda örnekleri 10 kez zenginleştirme seviyesine veya bunun aşağısına incek şekilde PBS ile seyreltin ya da DNA saflaştırma prosedüründen daha az başlangıç materyali kullanın.

Beyaz kan hücresi tabakası örnekleri hemen kullanılabilir, kısa süreli olarak 2-8°C'de 7 güne kadar saklanabilir veya ileri bir tarihte DNA saflaştırılmasında kullanılmak üzere -20°C ya da -80°C'de saklanabilir. 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.

Not: Örnek stabilitesi büyük oranda çeşitli faktörlere bağlı olup spesifik aşağı akış uygulamasıyla ilgilidir. Laboratuvarda kullanılan spesifik aşağı akış uygulamasının kullanım talimatlarına başvurmak ve/veya uygun saklama koşullarını sağlamaya yönelik iş akışını belirlemek kullanıcının sorumluluğundadır.

Elüatların saklanması

Çalışma biter bitmez elüat plakasını "Eluate" (Elüat) çekmecesinden alma önerilir. Elüsyon plakaları çalışma tamamlandıktan sonra gece boyunca QIASymphony SP içinde bırakılabilir (çalışma süresi dahil maksimum 12 saat; önerilen çevre koşulları: 18-26°C ve %20-75 bağıl nem). Sıcaklık ve neme bağlı olarak elüatta kondansasyon veya buharlaşma olabilir.

Kısa süreli depolamada elüatlar oda sıcaklığında 2 haftaya kadar saklanabilir. Uzun süreli saklamada 2-8°C, -20°C veya -80°C'de saklama önerilir. Dondurulmuş elüatlar 3 defadan fazla çözülmemelidir.

Not: Elüat stabilitesi büyük ölçüde çeşitli faktörlere bağlı olup spesifik aşağı akış uygulamasıyla ilgilidir. QIASymphony DSP DNA Mini Kit için örnek niteliğindeki aşağı akış uygulamalarıyla birlikte oluşturulmuştur. Laboratuvarda kullanılan spesifik aşağı akış uygulamasının kullanım talimatlarına başvurmak ve/veya uygun saklama koşullarını sağlamaya yönelik iş akışını belirlemek kullanıcının sorumluluğundadır.

Başlamadan önce önemli nokta

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

Sınırlamalar ve olumsuz etkileyen maddeler





Yüksek konsantrasyonda trigliserit (>30 g/l) içeren kan örnekleri, gDNA veriminin düşmesine neden olabilir.

Not: QIASymphony DSP DNA Mini Kit'in geliştirilmesi sırasında, heparinin performans üzerinde olumsuz bir etkisi olduğuna dair hiçbir belirti gözlemlenmediğini lütfen unutmayın. Ancak ISO 20186-2:2019(E), kan toplama tüplerinden gelen heparinin izole edilmiş nükleik asitlerin saflığını etkileyebileceğini ve elüatlara olası bir taşınmanın bazı aşağı akış uygulamalarında inhibisyonlara neden olabileceğini belirtmektedir. Bu nedenle, heparinin iş akışı üzerinde olumsuz bir etkisi olup olmadığını doğrulamak kullanıcının sorumluluğundadır.

Not: Test işlemi, ekstrakte edilen nükleik asitlerin kalitesinin değerlendirilmesi için örnek aşağı akış uygulamaları kullanılarak yapılmıştır. Bununla birlikte, farklı aşağı akış uygulamalarının saflık açısından farklı gereksinimleri olabilir (örn. potansiyel olumsuz etkileyen maddelerin yokluğu); bu nedenle ilgili maddelerin tanımlanması ve test edilmesi, QIASymphony DSP DNA Mini Kit içeren bir işlem akışında aşağı akış uygulaması geliştirmenin bir parçası olarak gerçekleştirilmelidir.

Semboller

Bu belgede aşağıdaki semboller yer almaktadır. Kullanım talimatlarında ya da ambalaj ve etiketlemede kullanılan sembollerin tam listesi için lütfen el kitabına bakın.

Sembol	Sembol tanımı
	Bu ürün, in vitro tanı amaçlı tıbbi cihazlar için Avrupa Yönetmeliđi 2017/746'nın gerekliliklerini karşılamaktadır.
	İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz
	Katalog numarası
Rn	R, Kullanım Talimatları revizyonu olup n ise revizyon numarasıdır
	Üretici

Revizyon geçmiři

Revizyon

Açıklama

R1, Haziran 2022

Sürüm 2, Revizyon 1

- IVD uyumu için sürüm 2'ye güncelleme
- Sınırlamalar ve olumsuz etkileyen maddeler bölümünün eklenmesi
- Elüatların saklanması bölümünün eklenmesi
- Semboller bölümünün eklenmesi
- Örnek materyalinin hazırlanması bölümünün güncellenmesi

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

Ticari Markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Bu belgede geçen tescilli adlar, ticari markalar vb. açıkça bu şekilde belirtilmemiş olsa bile yasalarda korunmaktadır.
06/2022 HB-3029-S04-001 © 2022 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.