

Prosinec 2017

List protokolu QIASymphony[®] SP

VirusBlood200_V5_DSP protokol

Tento dokument je *list protokolu* VirusBlood200_V5_DSP QIASymphony SP, R2, pro sadu QIASymphony DSP DNA Mini, verze 1.

Základní informace

Sada QIASymphony DSP DNA je určena pro diagnostické účely in vitro.

Tento protokol je o izolaci virové DNA z čerstvě odebrané lidské krve při použití QIASymphony® SP a izolačního kitu QIASymphony DSP DNA Mini Kit. Volná virová DNA i viry v buňkách jsou izolovány spolu s genomickou DNA z krevních buněk.

Kit	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (cat. no. 937236)
Výchozí materiál	Lidská krev (EDTA nebo citrate anti-coagulated)
Název protokolu	VirusBlood200_V5_DSP
Default Assay Control Set	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Nastavitelný parametr	Eluční objem: 60 µl, 85 µl, 110 µl, 165 µl
Doporučená verze softwaru	Verze 4.0 nebo vyšší

Box na vzorek

Typ vzorku	Lidská krev (EDTA nebo citrate anti-coagulat)
Objem vzorku	Záleží na typu zkumavky, více informací na: www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Primární zkumavka	Více informací na: www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Sekundární zkumavka	Více informací na: www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Insert	Záleží na typu zkumavky, více informací na: www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Další	Interní kontrola–vyžadován ATE pufr mix; použití interní kontroly není nezbytné

Box na reagentie a spotřební materiál

Pozice A1 a A2	Reagenční zásobník
Pozice B1	Nepoužitelný
Držák špiček 1–17	Jednorázové špičky s filtrem, 200 µl nebo 1500 µl
Držák na unit boxy 1–4	Unit boxy obsahují izolační zásobník nebo 8-Rod Covers

Box na odpad

Držák na unit boxy 1–4	Prázdné unit boxy
Držák na odpad	Odpadkový koš
Držák na tekutý odpad	Prázdňá láhev na tekutý odpad

Elučňi box

Přihrádka na eluci (doporučujeme použít pozici 1, chlazená pozice)	více informací naleznete na: www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
--	--

Vyžadovaný plast

	Jedna dávkaa, 24 vzorků*	Dvě dávky, 48 vzorků*	Tři dávky, 72 vzorků*	Čtyři dávky, 96 vzorků*
Jednorázové špičky s filtrem, 200 µl ^{†‡}	26	50	74	98
Jednorázové špičky s filtrem, 1500 µl ^{†‡}	98	188	278	368
Izolační zásobník [§]	21	42	63	84
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Použijte více než jednu interní kontrolu pro každou várku a proveďte více než jedno zjištění zásob pro požadované množství špiček. Při použití méně než 24 vzorků v jednom běhu se snižuje potřebný počet jednorázových špiček s filtrem.

[†] Jsou zde zásobníky na 32 špiček.

[‡] Potřebný počet špiček zahrnuje špičky pro zjištění zásob v reagenčním zásobníku.

[§] Je zde 28 izolačních zásobníků/unit box.

[¶] Je zde dvanáct 8-Rod Covers/unit box.

Poznámka: Stanovený počet špiček se může lišit s počtem špiček zobrazeným na displeji. Doporučujeme vložit nejvyšší možný počet špiček.

Zvolený elučňi objem

Zvolený elučňi objem (µl)*	Výchozí elučňi objem (µl) [†]
60	90
85	115
110	140
165	195

* Elučňi objem vybraný na displeji. To je minimální objem eluátu v konečné elučňi tubě.

[†] Výchozí elučňi objem požadovaný k zajištění k tomu, aby skutečný objem eluátu byl stejný, jako zvolený objem.

Příprava interní kontroly- ATE pufr mix

Použití VirusBlood200_V5_DSP protokolu v kombinaci s amplifikačními systémy, které používají interní kontrolu umožňují zavedení těchto interních kontrol do procesu izolace ke sledování účinnosti izolace vzorku a další aplikace.

Množství interní kontroly závisí na konkrétním protokolu a zvoleném elučním objemu. Výpočet a validace musí být provedena uživatelem dle instrukcí od výrobce pro další následné aplikace, k určení optimální koncentrace interní kontroly.

Interní kontroly musí být dodány spolu se směsí interní kontrola - ATE pufr mix do celkového objemu 60 µl. Směs interních kontrol může být použita k analýze různých parametrů z jednoho eluátu. Kompatibilita různých interních kontrol musí být ověřena uživatelem. Doporučujeme přípravu čerstvých mixů před každým během. Pufr ATE je vyžadován, i když není použita interní kontrola.

Zvolený eluční objem (µl)	Výchozí eluční objem (µl)	Množství interní kontroly (µl)*	Možství ATE pufru (ATE) (µl)	Konečný objem vzorku (µl)
60	90	9	51	60
85	115	11.5	48.5	60
110	140	14	46	60
165	195	19.5	40.5	60

* Výpočet množství interní kontroly závisí na výchozím elučním objemu. Mrtvý objem závisí na použití typu zkumavky. Více informací na: www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Upozornění: Hodnoty zobrazené v tabulce jsou pro přípravu interní kontroly-ATE pufr mix pro další následné aplikace, kde je potřeba 0.1 µl interní kontroly/µl eluátu.

Zkumavky obsahující interní kontrolu-ATE pufr mix jsou vloženy do transportního boxu. Transportní box obsahující interní kontrolu-Buffer ATE směs musí být umístěn ve slotu A "Sample" boxu.

V závislosti na počtu zpracovaných vzorků doporučujeme použít pro ředění interní kontroly 2 ml zkumavky (Sarstedt®, cat. nos. 72.693 and 72.694) nebo 14 ml 17 x 100 mm polystyrene, s kulatým dnem zkumavky (Becton Dickinson (BD™), cat. no. 352051), jak je popsáno v tabulce viz.níže. Je možné rozdělit objem do 2 a více zkumavek.

Výpočet objemu pro interní kontrolu

typ zkumavky ‡	Jméno na displeji QIASymphony	Výpočet objemu interní kontroly na zkumavku
2 ml s víčkem; mikrozkušavka 2 ml, PP, SKIRTED, (Sarstedt, cat. no. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
mikrozkušavka 2 ml s víčkem; mikrozkušavka 2 ml, PP, NON-SKIRTED, (Sarstedt, cat. no. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Zkušavka 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene s kulatým dnem (Becton Dickinson, cat. no. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Použijte tuto rovnici pro výpočet objemu směsi interní kontroly (n = počet vzorků; $60 \mu\text{l}$ = množství interní kontroly-ATE pufr mix; $360 \mu\text{l}$ = mrtvý objem požadovaný pro zkumavku), např. pro 12 vzorků ($n = 12$): $(12 \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1080 \mu\text{l}$. Neplňte zkumavku více než 1.92 ml. Pokud chcete zpracovat více jak 26 vzorků (vyžadující objem vyšší než 1.92ml), je nutné použít další zkumavky. Ujistěte se, že mrtvý objem je přidán do každé zkumavky.

† Použijte tuto rovnici pro výpočet objemu interní kontroly-ATE pufr směsi (n = počet vzorků; $60 \mu\text{l}$ = objem interní kontroly-ATE pufr mix; $600 \mu\text{l}$ = mrtvý objem požadovaný pro zkumavku) např. pro 96 vzorků ($n = 96$): $(96 \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 6360 \mu\text{l}$.

‡ Více informací na: www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Příprava vzorku

Pokud pracujete s chemikáliemi vždy noste vhodný oděv do laboratoře, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Pro více informací nahlédněte do příslušných bezpečnostních listů dostupných u dodavatele.

Lidská krev

Pro izolaci virové DNA doporučujeme použití plné krve ošetřené EDTA nebo citrátem. Vzorky mohou být zpracovány během 24 hodin od odběru. Skladujte a převázejte vzorky při 2-25°C. Pro dlouhodobé skladování doporučujeme vzorky zamrazit při -20°C až -80°C.

Použijte krevní vzorky v primární zkumavce, důkladně promíchejte (několikrát otočit zkumavku) před vložením do QIASymphony SP. Pro zajištění spolehlivého přenosu vzorku je potřeba vyhnout se vytvoření pěny ve zkumavce. Snažte se vyhnout sraženině ve vzorku, pokud je to nezbytné přeneste vzorek do nové zkumavky bez sraženiny.

Historie revizí

Historie revizí dokumentu	
R2 12/2017	Aktualizace pro software QIASymphony verze 5.0

Aktuální licenční informace a právní doložky specifické pro produkty naleznete v příslušných příručkách a uživatelských manuálech QIAGENU[®]. Příručky a uživatelské manuály QIAGENU jsou dostupné na www.qiagen.com nebo na vyžádání u QIAGEN Technical Services nebo u Vašeho místního distributora.

Trademarks: QIAGEN[®], Sample to Insight[®], QIASymphony[®] (QIAGEN Group); BD[™], (Becton, Dickinson and Company); Sarstedt[®] (Sarstedt AG and Co.). Registered names, trademarks, etc. used in this document, even when not specifically marked as such, are not to be considered unprotected by law.
12/2017 HB-0977-S07-002 © 2017 QIAGEN, all rights reserved.

Objednávky www.qiagen.com/shop | Technická podpora support.qiagen.com | Webová stránka www.qiagen.com