

Komplekti QIASymphony[®] DSP DNA Midi Kit kasutusjuhised (protokollileht)

DNA_Buffy_Coat_400_V6 DSP protocol

2. versioon

IVD

Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas

Kasutamiseks komplektiga QIASymphony DSP DNA Midi Kit (96)



REF

937255



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Saksamaa

R1

Protokollileht on elektrooniliselt saadaval ja leitav tootelehe ressurside vahelhel veebilehel www.qiagen.com.

Üldine teave

Komplekt QIASymphony DSP DNA Kit on ette nähtud kasutamiseks *in vitro* diagnostikas.

See protokoll on kogu genoomse ja mitokondriaalse DNA puhastamiseks värskest või külmutatud inimese täisverest komplektiga QIASymphony DSP DNA Midi Kit analüsaatoris QIASymphony SP.

| | |
|--|---|
| Komplekt | QIASymphony DSP DNA Midi Kit (katalooginr 937255) |
| Proovimaterjal | Trombotsüütide-leukotsüütide kiht (EDTA, tsitraat või liitiumhepariin antikoagulandiga) |
| Protokoll nimetus | DNA_BC_400_V6_DSP |
| Analüüsi kontrolli vaikekomplekt | ACS_BC_400_V6_DSP |
| Muudetav | Elueerimismaht: 200 ja 400 µl |
| Nõutav tarkvaraversioon | Versioon 4.0 või uuem |
| Nõutud tarkvara konfiguratsioon IVD kasutuseks | Vaikeprofiil 1 |

Sahtel „Sample“ („Proov“)

| | |
|-----------------------------|---|
| Proovitüüp | Inimese täisveri (EDTA, tsitraat või liitiumhepariin antikoagulandiga) |
| Proovi kogus | Oleneb kasutatava proovikatsuti tüübist. Lisateavet leiate veebilehe www.qiagen.com laboritarvete loendist tootelehe ressursside vahelehel. |
| Primaarsed proovikatsutid | – |
| Sekundaarsed proovikatsutid | Lisateavet leiate veebilehe www.qiagen.com laboritarvete loendist tootelehe ressursside vahelehel. |
| Siseosad | Oleneb kasutatava proovikatsuti tüübist. Lisateavet leiate veebilehe www.qiagen.com laboritarvete loendist tootelehe ressursside vahelehel. |

n/a = pole kohaldatav

Sahtel „Reagents and Consumables“ („Reaktiivid ja proovimaterjalid“)

| | |
|--------------------------------|---|
| Positsioon A1 ja/või A2 | Reaktiivikassett (Reagent cartridge, RC) |
| Positsioon B1 | – |
| Otsikustatiivide hoidik 1–17 | Ühekordselt kasutatavad filterotsikud, 200 või 1500 µl |
| Ühikukarpide hoidik 1–4 | Ühikukarbid, mis sisaldavad proovi ettevalmistamise kassette või kaasi 8-Rod Covers |

n/a = pole kohaldatav

Sahtel „Waste“ („Jäätmed“)

| | |
|--------------------------------|--------------------------|
| Ühikukarpide hoidik 1–4 | Tühjad ühikukarbid |
| Jäätmekoti hoidik | Jäätmekott |
| Vedeljäätmete pudeli hoidik | Tühi vedeljäätmete pudel |

Sahtel „Eluate“ („Eluaat“)

Elueerimisstatiiv (soovitame kasutada pesa 1, jahutusasend)

Lisateavet leiate veebilehe www.qiagen.com laboritarvete loendist tootelehe ressursside vahelehel.

Vajalik plastvara

| Plastvara | Üks partii 24 proovi* | Kaks partiid 48 proovi* | Kolm partiid 72 proovi* | Neli partiid 96 proovi* |
|-----------------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 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 |

* Partii kohta vähem kui 24 proovi kasutamine vähendab vajaminevate ühekordsete filterotsikute arvu töötsükli kohta.

† Filterotsikute statiivis on 32 filterotsikut.

‡ Vajalike filterotsikute arvu hulka on arvatud filterotsikud, mis on vajalikud 1 inventuuriskanniks RC kohta.

§ Ühikukarbis on 28 proovi ettevalmistamise kassetti.

¶ Ühikukarbis on kaksteist kaant 8-Rod Covers.

Märkus. Eeltoodud filterotsikute arv võib sõltuvalt seadistustest erineda puutekraanil kuvatavast arvust. Soovitame seadmesse laadida maksimaalse võimaliku hulga otsikuid.

Elueerimismaht

Elueerimismaht valitakse puutekraanilt. Olenevalt proovitiübist ja DNA sisaldusest võib eluaadi lõplik maht varieeruda ja olla kuni 15 µl väiksem kui valitud maht. Tulenevalt asjaolust, et eluaadi maht võib varieeruda, soovitame kontrollida eluaadi tegelikku mahtu, kui kasutate automatiseeritud analüüsi seadistamise süsteemi, mis enne ülekandmist eluaadi mahtu ei kontrolli. Elueerimine väiksemates kogustes tõstab lõpliku DNA kontsentratsiooni kuid vähendab vähesel määral saagist. Soovitame kasutada elueerimismahtu, mis sobiks soovitud allasuunas rakenduse jaoks.

Proovimaterjali ettevalmistamine

Kemikaalidega töötamisel kandke alati sobivat laborikitlit, ühekordselt kasutatavaid kindaid ja kaitseprille. Lisateabe saamiseks tutvuge toote tarnija poolt pakutava vastava ohutuskaardiga (Safety Data Sheet, SDS).

Proovide üldise võtmise transportimise ja hoiustamise soovituste jaoks vaadake heakskiidetud CLSI juhist MM13-A „Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods“ (Proovide võtmine, transportimine, ettevalmistamine ja hoiustamine molekulaarmedodite jaoks). Lisaks peate proovi ettevalmistamise, hoiustamise, transportimise ja üldise käsitsemise ajal järgima tootja juhiseid valitud proovivõtmisseadme kohta.

Trombotsüütide-leukotsüütide kiht

Trombotsüütide-leukotsüütide kiht on täisvere leukotsüütiderikas fraktsioon Leukotsüütidega rikastamise tõhusus sõltub trombotsüütide-leukotsüütide kihi valmistamiseks kasutatavast protseduurist ja trombotsüütide-leukotsüütide kihi ekstraheerimise täpsusest. Valmistage trombotsüütide-leukotsüütide, tsentrifuugides täisvere proove, mis sisaldavad standardset antikoagulanti (EDTA, tsitraat või hepariin), 10 minutit toatemperatuuril (15–25 °C) 900–1100 x g juures. Pärast tsentrifugimist on võimalik eristada 3 erinevat fraktsiooni: ülemine läbipaistev kiht on plasma, keskmine kiht on kontsentreeritud leukotsüüte sisaldav trombotsüütide-leukotsüütide kiht ja alumine kiht sisaldab kontsentreeritud erütrotsüüte. 10 ml tsentrifuugitud täisverest tuleks eraldada 1 ml leukotsüüte sisaldav fraktsioon, mis annab keskmisest 5–6-kordse rikastuse. Näiteks annab leukotsüütide kogu arvuga 6×10^6 rakku/ml 10 ml täisverd 1 ml trombotsüütide-leukotsüütide kihti. Eeldades, et tegu on 5-kordselt rikastatud leukotsüütidega, annab see 3×10^7 rakku/ml. Seetõttu kasutatakse 400 µl trombotsüütide-leukotsüütide kihiga protokollis $1,2 \times 10^7$ rakku.

DNA puhastamise protseduuri ülelaadimise vältimiseks ärge valmistage trombotsüütide-leukotsüütide kihi proove, mis on > 10-kordse rikastusega. Kui trombotsüütide-leukotsüütide kiht on > 10-kordse rikastusega, lahjendage proove PBS-ga kuni 10-kordse rikastuseni või kasutage DNA puhastamise protseduuris vähem lähtematerjali.

Trombotsüütide-leukotsüütide kihi proove võib kasutada kohe või säilitada hilisemaks DNA puhastamiseks temperatuuril –20 °C või –80°C. Külmutatud proovid tuleks sulatada kiiresti 37 °C vesivannis kergelt loksutades, et tagada korralik segamine ja seejärel tasakaalustada toatemperatuuril (15–25 °C) enne protseduuri alustamist. Kindlaks proovi ülekandmiseks vältige proovikatsutes vahu tekkimist. Proovides verehüüvete vältimiseks kandke vajadusel ilma hüübета proov uude katsutisse.

Märkus. Proovi stabiilsus oleneb suuresti erinevatest teguritest ja seostub spetsiifiliste järelrakendustega. Kasutaja kohustus on tutvuda kohaliku labori järelrakenduse kasutusjuhistega ja/või valideerida kogu töövoogu, et kindlaks teha vajalikud hoiustamistingimused.

Eluaatide hoiustamine

Soovitav on eemaldada eluaadi plaat sahtlist „Eluate“ („Eluaat“) kohe pärast tööseeria lõppemist. Eluaadi plaadid võib jätta seadmesse QIASymphony SP pärast käituse lõpetamist üle öö (kuni 12 tundi, sh käituse aeg, soovituslikud keskkonningimused: 18–26 °C ja suhteline niiskus 20–75%). Olenevalt temperatuurist ja niiskusest, võib eluaadil toimuda kondenseerumine või aurumine.

Lühiajaliseks hoiustamiseks mõeldud eluaate võib hoiustada toatemperatuuril kuni 2 nädalat. Pikaajaliseks hoiustamiseks on soovitatav eluaate hoiustada temperatuuril 2–8 °C, –20 °C või –80 °C. Külmutatud eluaate ei tohi sulatada rohkem kui kolm korda.

Märkus. Eluaadi stabiilsus oleneb suuresti erinevatest teguritest ja seostub spetsiifiliste järelrakendustega. See on kindlaks tehtud komplekti QIASymphony DSP DNA Midi Kit jaoks koos näitlike järelrakendustega. Kasutaja kohustus on tutvuda kohaliku labori järelrakenduse kasutusjuhistega ja/või valideerida kogu töövoogu, et kindlaks teha vajalikud hoiustamistingimused.

Enne alustamist pidage silmas järgmist

- QIASymphony magnetilised osakesed võivad puhastada ka RNA-d, kui seda proovis leidub. Proovis RNA sisalduse vähendamiseks lisage enne protseduuri alustamist proovile RNase A-d. Lõplik RNase A kontsentratsioon peaks olema 2 mg/ml.

Piirangud ja segavad ained





Vereproovid, milles on kõrge triglütseriidide kontsentratsioon (> 30 g/l), võivad anda tulemuseks väiksema gDNA saagise.

Märkus. Katsetamiseks kasutati järelrakenduste näidiseid, et hinnata eraldatud nukleiinhapete kvaliteeti. Kuid erinevatel järelrakendustel võivad olla erinevad nõudmised puhtuse (s.t võimalike segavate ainete puudumine) suhtes, seepärast on asjakohased ained ja vastavad kontsentratsioonid tuvastamiseks ja katsetamiseks vaja kindlaks määrata osana järelrakendusest, mida arendatakse mis tahes töövoos jaoks, mis hõlmab komplekti QIASymphony DSP DNA Midi Kit.

Märkus. Võtke arvesse, et komplekti QIASymphony DSP DNA Midi Kit arenduse ajal ei ilmnenud näidistusi hepariini negatiivse sooritusmõju kohta. Kuid standard ISO 20186-2:2019(E) ütleb, et verevõtukatsutis hepariin võib mõjutada isoleeritud nukleiinhapete ja puhtust ja võimalik jääkmõju eluaatidele võib põhjustada segamist mõnes järelrakenduses. Seepärast vastutab kasutaja hepariini negatiivse mõju valideerimise eest töövoole.

Sümbolid

Selles dokumendis kasutatakse järgmisi sümboleid. Vaadake kasutusjuhistes, pakendil või siltidel kasutatavate sümbolite täielikku loendit käsiraamatust.

| Sümbol | Tähise selgitus |
|---|---|
|  | See toode täidab Euroopa Liidu määruse 2017/746 <i>in vitro</i> diagnostikaks kasutatud meditsiiniseadmete kohta nõudeid. |
|  | <i>In vitro</i> diagnostiline meditsiiniseade |
|  | Katalooginumber |
| Rn | R on kasutusjuhendi läbivaatamine ja n on versiooninumber |
|  | Tootja |

Muudatuste ajalugu

Redaktsioon

R1, juuni 2022

Kirjeldus

Versioon 2, redaktsioon 1

- Uuendatud versioonile 2 vastamaks IVD-le
- Uuendatud segavate ainete ja piirangute jaotis
- Uuendatud eluaadide hoiustamise jaotis
- Uuendatud sümbolite jaotis
- Uuendatud proovimaterjali ettevalmistamise jaotis

Ajakohase litsentsiteabe ja tootespetsiifilised õigustest loobumised leiate asjakohasest QIAGEN®-i komplekti käsiraamatust või kasutusjuhendist. QIAGEN-i komplekti käsiraamatud ja kasutusjuhendid on saadaval veebilehel www.qiagen.com või tellimisel QIAGEN-i tehniliselt toelt või kohalikul müügiesindajalt.

Kaubamärgid: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Selles dokumendis kasutatud registreeritud nimetused, kaubamärgid jne loetakse seadusega kaitstuks ka juhul, kui need pole eraldi kaubamärkidena tähistatud.
06/2022 HB-3029-S05-001 © 2022 QIAGEN, kõik õigused kaitstud.