

Joulukuu 2017

QIASymphony[®] SP -protokollalomake

DNA_Buffy_Coat_200_V7 DSP -protokolla

Tämä asiakirja on DNA_Buffy_Coat_200_V7 DSP QIASymphony SP -protokollalomake, R2, QIASymphony DSP DNA Mini Kit -tarvikesarjalle, versio 1.

Yleistä

QIASymphony DSP DNA -tarvikesarja on tarkoitettu in vitro -diagnostiikkaan.

Tämä on protokolla koko genomisen ja mitokondriaalisen DNA:n puhdistukseen tuoreesta tai jäädyneestä buffy coat -kerroksesta QIASymphony SP:n ja QIASymphony DSP DNA Mini Kit -tarvikesarjan avulla.

Sarja	QIASymphony DSP DNA Mini Kit -sarja (tuotenro 937236)
Näyttemateriaali	Buffy coat (antikoagulanttina EDTA, sitraatti tai hepariini)
Protokollan nimi	DNA_BC_200_V7_DSP
Analyysin kontrollin oletusasetus	ACS_BC_200_V7_DSP
Muokattavuus	Eluaattitilavuus: 200 µl, 300 µl, 400 µl
Tarvittava ohjelmistoversio	Versio 4.0 tai uudempi

Sample (Näyte) -lokero

Näytetyyppi	Buffy coat (antikoagulanttina EDTA, sitraatti tai hepariini)
Näyttemäärä	Käytetyn näyteputken mukainen, katso lisätietoja osoitteesta www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Ensisijaiset näyteputket	–
Toissijaiset näyteputket	Katso lisätietoja osoitteesta www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Asettimet	Käytetyn näyteputken mukainen, katso lisätietoja osoitteesta www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

n/a = ei olennainen.

Reagents and Consumables (Reagenssit ja tarvikkeet) -lokero

Sijainti A1 ja/tai A2	Reagenssikasetti
Sijainti B1	–
Kärkitelineen pidike 1–17	Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 tai 1 500 µl
Yksikkölaatikon pidike 1–4	Yksikkölaatikot sisältävät näytteen valmistelukasetit tai 8-sauvaiset kannet

n/a = ei olennainen.

Waste (Jäte) -lokero

Yksikkölaatikon pidike 1–4	Tyhjät yksikkölaatikot
Jätepussin pidike	Jätepussi
Nestejätepullon pidike	Tyhjä nestejätepullo

Eluate (Eluaatti) -lokero

Eluaattilinen (käytä sijaintia 1, jäähdytysasento)	Katso lisätietoja osoitteesta www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
--	--

Vaaditut muoviastiat

	Yksi erä, 24 näytettä*	Kaksi erää, 48 näytettä*	Kolme erää, 72 näytettä*	Neljä erää, 96 näytettä*
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 µl†‡	2	2	2	2
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 1500 µl†‡	110	212	314	416
Kasetit näytteen valmisteluun§	18	36	54	72
8-sauvaiset kannet¶	3	6	9	12

* Jos erässä käytetään alle 24 näytettä, ajossa tarvitaan vähemmän kertakäyttöisiä suodatinkärkiä.

† Kärkitelineessä on 32 suodatinkärkeä.

‡ Tarvittavien suodatinkärkien määrä käsittää suodatinkärjet yhteen skannaukseen per reagenssikasetti.

§ Yksikkölaatikossa on 28 näytteen valmistelukasettia.

¶ Yksikkölaatikossa on 12 kpl 8-sauvaisia kansia.

Huomautus : Mainittu suodatinkärkien määrä voi poiketa kosketusnäytössä näkyvästä luvusta asetuksista riippuen. Suosittelemme lataamaan suurimman mahdollisen määrän kärkiä.

Eluaattitilavuus

Eluaattitilavuus valitaan kosketusnäytöstä. Eluaattitilavuus voi vaihdella näytetyypin ja DNA-sisällön mukaan korkeintaan 15 µl valittua tilavuutta pienemmäksi. Koska eluaattitilavuus voi vaihdella, suosittelemme tarkistamaan todellisen eluaattitilavuuden, kun käytetään automaattista määrityksen asetusjärjestelmää, joka ei tarkista eluaattitilavuutta ennen siirtoa. Pienillä tilavuuksilla tehty eluutio suurentaa lopullisen DNA:n pitoisuutta, mutta samalla pienentää satoa hieman. Suosittelemme käyttämään aiottuun seuraavaan käyttösovellukseen sopivaa eluaattitilavuutta.

Näyttemateriaalin valmistelu

Työskenneltäessä kemikaalien kanssa on aina käytettävä asianmukaista laboratoriotakkia, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoja saa tuotekohtaisista käyttöturvallisuustiedotteista (safety data sheets, SDSs), jotka ovat saatavana tuotteen toimittajalta.

Tärkeä huomioitava seikka ennen aloittamista

- QIASymphonyn magneettiset hiukkaset voivat edistää RNA:n puhdistumista, jos sitä on näytteessä. Minimoi RNA:n määrä näytteessä lisäämällä RNAsi A:ta näytteeseen ennen toimenpiteen aloittamista. Valmiin RNasi A -seoksen pitoisuuden on oltava 2 mg/ml.

Buffy coat

Buffy coat on kokoveren leukosyyttirikastettu osuus. Leukosyyttirikastamisen teho on buffy coat -kerroksen valmistelutavan ja uuttamistavan tarkkuuden mukainen. Valmistele buffy coat käyttämällä vakiokäytännön mukaista antikoagulanttia (EDTA, sitraatti tai hepariini) sisältäviä kokoverinäytteitä sentrifugissa nopeudella $900 - 1\,100 \times g$ 10 minuutin ajan huoneenlämmössä (15–25 °C). Sentrifugoinnin jälkeen näytteessä näkyy kolme erillistä osaa: ylin, kirkas kerros on plasmaa, keskimäinen kerros on buffy coat, joka sisältää tiivistettyjä leukosyyttejä, ja alin kerros sisältää tiivistettyjä punasoluja. Noin 1 ml leukosyyttejä sisältävästä osiosta pitää kerätä noin 10 ml:sta sentrifugissa käytettyä koko verta, jolloin tavallisesti saadaan 5–6-kertainen rikastus. Esimerkiksi 10 ml:ssa kokoverta, jonka valkosoluluku on 6×10^6 solua/ml, saadaan 1 ml buffy coat -kerrosta. Jos valkosolujen rikastus oletetaan viisinkertaiseksi, tuloksena on 3×10^7 solua/ml. Näin ollen protokollassa, jossa käytetään 200 µl:n buffy coat -kerrosta, käytetään, 6×10^6 solua.

Jotta DNA-puhdistustoimenpide ei kuormittuisi liikaa, älä valmistele yli kymmenkertaisesti rikastettuja buffy coat -näytteitä. Jos buffy coat -näytteissä on yli kymmenkertainen rikastus, laimenna näytteitä kymmenkertaiseen tai laimeampaan rikastukseen PBS:n avulla tai käytä DNA-puhdistustoimenpiteessä vähemmän aloitusmateriaalia.

Buffy coat -näytteitä voidaan käyttää heti tai ne voidaan säilyttää –20 °C:ssa tai –70 °C:ssa myöhempää DNA:n puhdistusta varten. Pakastetut näytteet on sulatettava nopeasti 37 °C:n vesihauteessa hieman liikutellen, jotta niiden perusteellinen sekoittuminen voidaan varmistaa. Tämän jälkeen näytteet on tasattava huoneenlämpöön (15–25 °C) ennen toimenpiteen aloittamista. Varmista luotettava näytteen siirto välttämällä vaahtoutumista näyteputkissa. Pyri välttämään verihyytymien muodostuminen näytteeseen ja siirrä tarvittaessa näytteen hyytymätön osa uuteen putkeen.

Muutoshistoria

Asiakirjan muutoshistoria	
R2 12/2017	Päivitys QIASymphony-ohjelmistoversiolle 5.0

Voimassa olevat lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet ovat saatavilla tuotekohtaisista QIAGEN®-pakkausten käyttöoppaista tai käsikirjoista. QIAGEN-sarjojen käsikirjat ja käyttöoppaat löytyvät osoitteesta www.qiagen.com, tai niitä voi tiedustella QIAGENin teknisestä huollosta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

Tavaramerkit: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN-konserni). Tässä asiakirjassa mainittuja rekisteröityjä nimiä, tavaramerkkejä jne. on pidettävä lain suojaamina, vaikkei niitä olisi erityisesti sellaisiksi merkitty.
12/2017 HB-0977-S05-002 © 2017 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.

Tilaukset www.qiagen.com/shop | Tekninen tuki support.qiagen.com | Verkkosivusto www.qiagen.com