

decembrie 2017

Fișă de protocol QIAsymphony[®] SP

DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP protocol

Acest document este *Fișa de protocol QIAsymphony SP, R3 DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP*, pentru QIAsymphony DSP DNA Mini Kit, versiunea 1.

Informații generale

QIASymphony DSP DNA Kit este destinat utilizării pentru diagnostic in vitro.

Acest protocol este destinat purificării ADN-ului genomic și mitocondrial total din strat leuco-trombocitar proaspăt sau congelat, utilizând QIASymphony SP și QIASymphony DSP DNA Midi Kit.

Kit	QIASymphony DSP DNA Midi Kit (cat. nr. 937255)
Material de probă	Strat leuco-trombocitar (EDTA, citrat sau heparină anticoagulantă)
Denumire protocol	DNA_BC_400_V6_DSP
Set implicit de control al dozării	ACS_BC_400_V6_DSP
Editabil	Volum de eluție: 200 µl, 400 µl
Versiune software necesară	Versiunea 4.0 sau mai recentă

Sertarul „Sample” (Probă)

Tip probă	Strat leuco-trombocitar (EDTA, citrat sau heparină anticoagulantă)
Volum probă	Depinde de tipul eprubetei pentru probă utilizat; pentru mai multe informații, consultați www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Eprubete pentru probă primare	n/a
Eprubete pentru probă secundare	Pentru mai multe informații, consultați www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Elemente de inserție	Depinde de tipul eprubetei pentru probă utilizat; pentru mai multe informații, consultați www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

n/a = nu se aplică.

Sertarul „Reagents and Consumables” (Reactivi și consumabile)

Poziția A1 și/sau A2	Cartuș cu reactivi
Poziția B1	n/a
Support al stativului pentru vârfuri 1–17	Vârfuri cu filtru de unică folosință, 200 µl sau 1500 µl
Support al cutiilor individuale 1–4	Cutii individuale care conțin cartușe pentru prepararea probelor sau învelișuri pentru 8 tije

n/a = nu se aplică.

Sertarul „Waste” (Deșeuri)

Suport al cutiilor individuale 1–4	Cutii individuale goale
Suport al pungilor pentru deșeuri	Pungă pentru deșeuri
Suport al flaconului de deșeuri lichide	Flacon de deșeuri lichide gol

Sertarul „Eluate” (Eluat)

Stativ de eluție (recomandăm utilizarea fantei 1, poziție de răcire)	Pentru mai multe informații, consultați www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
--	--

Componente din plastic necesare

	Un lot, 24 de probe*	Două loturi, 48 de probe*	Trei loturi, 72 de probe*	Patru loturi, 96 de probe*
Vârfuri cu filtru de unică folosință, 200 µl†	4	4	4	8
Vârfuri cu filtru de unică folosință, 1500 µl†	110	212	314	424
Cartușe de preparare a probei§	18	36	54	72
Învelișuri pentru 8 tije¶	3	6	9	12

* Utilizarea a mai puțin de 24 de probe pe lot scade numărul de vârfuri cu filtru de unică folosință necesar pentru fiecare testare.

† Există 32 de vârfuri cu filtru/stativ pentru vârfuri.

‡ Numărul de vârfuri cu filtru necesare include vârfuri cu filtru pentru 1 scanare a inventarului pe cartuș cu reactivi.

§ Există 28 de cartușe de preparare a probei/cutie individuală.

¶ Există douăsprezece învelișuri pentru 8 tije/cutie individuală.

Notă: Numărul specificat de vârfuri cu filtru poate diferi de numărul afișat pe ecranul tactil, în funcție de setări. Recomandăm încărcarea unui număr maxim posibil de vârfuri.

Volum de eluție

Volumul de eluție este selectat pe ecranul tactil. În funcție de tipul probei și de conținutul de ADN, volumul de eluat final poate varia cu până la 15 µl mai puțin decât volumul selectat. Din cauza faptului că volumul de eluat poate varia, recomandăm verificarea volumului de eluat propriu-zis la utilizarea unui sistem automat de configurare a testelor care nu verifică volumul de eluat înaintea transferului. Eluția în volume mai mici mărește concentrația finală de ADN, dar reduce ușor rezultatul. Recomandăm utilizarea unui volum de eluție corespunzător pentru aplicația din aval dorită.

Prepararea probelor

Atunci când lucrați cu substanțe chimice, utilizați întotdeauna un halat de laborator, mănuși de unică folosință și ochelari de protecție adecvate. Pentru informații suplimentare, consultați fișele cu date de siguranță (Safety Data Sheets, SDS) corespunzătoare, disponibile de la furnizorul produsului.

Informație importantă înainte de a începe

- Particulele magnetice QIASymphony pot co-purifica ARN-ul, dacă acesta este prezent în probă. Pentru a reduce la minimum conținutul de ARN din probă, adăugați RNază A în probă înainte de începerea procedurii. Concentrația finală de RNază A trebuie să fie de 2 mg/ml.

Strat leuco-trombocitar

Stratul leuco-trombocitar este o fracție îmbogățită cu leucocite din sângele integral. Eficiența îmbogățirii cu leucocite depinde de procedura utilizată pentru prepararea stratului leuco-trombocitar și de precizia cu care este extras stratul leuco-trombocitar. Preparați stratul leuco-trombocitar prin centrifugarea probelor de sânge integral, care conțin un anticoagulant standard (EDTA, citrat sau heparină) la 900–1100 x g timp de 10 minute la temperatura camerei (15 – 25 °C). După centrifugare pot fi distinse 3 fracții diferite: stratul transparent superior este plasmă; stratul intermediar este strat leuco-trombocitar, care conține leucocite concentrate; stratul inferior conține eritrocite concentrate. Aproximativ 1 ml de fracție cu conținut leucocitar trebuie recoltat din 10 ml de sânge integral centrifugat, care, în medie, oferă o îmbogățire de 5–6x. De exemplu, 10 ml de sânge integral cu un număr de celule albe de 6×10^6 celule/ml rezultă în 1 ml strat leuco-trombocitar. Presupunând o îmbogățire de 5x a celulelor albe, rezultă 3×10^7 celule/ml. Prin urmare, în cadrul unui protocol care folosește 400 μ l de strat leuco-trombocitar, se vor folosi $1,2 \times 10^7$ celule.

Pentru a evita supraîncărcarea procedurii de purificare ADN, nu preparați probe de strat leuco-trombocitar cu îmbogățire > 10x. Dacă probele de strat leuco-trombocitar au o îmbogățire > 10x, diluați probele la o îmbogățire de maxim 10x cu PBS sau folosiți mai puțin material inițial în cursul procedurii de purificare ADN.

Probele de strat leuco-trombocitar pot fi folosite imediat sau depozitate la –20 °C sau la –70 °C pentru purificarea ADN-ului la o dată ulterioară. Probele congelate trebuie decongelate rapid, într-o baie de apă la 37 °C, cu o ușoară agitare pentru a asigura amestecarea temeinică, apoi trebuie aduse la temperatura camerei (15–25 °C) înainte de începerea procedurii. Pentru a garanta un

transfer sigur al probei, evitați generarea spumei în eprubetele pentru probă. Încercați să evitați cheagurile de sânge în probe și, dacă este necesar, transferați proba fără cheaguri într-o eprubetă nouă.

Istoricul revizuirilor

Istoricul revizuirilor documentului	
R3 12/2017	Actualizare pentru software-ul QIASymphony versiunea 5.0

Pentru informații actualizate privind licențele și clauzele de declinare a răspunderii specifice produselor, consultați ghidul sau manualul de utilizare al kitului QIAGEN® respectiv. Ghidurile și manualele de utilizare pentru kit-urile QIAGEN sunt disponibile pe www.qiagen.com sau pot fi solicitate de la Serviciul tehnic QIAGEN sau distribuitorul dumneavoastră local.

Mărci comerciale: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Denumirile înregistrate, mărcile comerciale etc. utilizate în documentul de față, chiar dacă nu sunt marcate în mod specific, sunt protejate prin lege.
12/2017 HB-0977-S06-003 © 2017 QIAGEN, toate drepturile rezervate.

Pentru comenzi www.qiagen.com/shop | Suport tehnic support.qiagen.com | Site web www.qiagen.com