



2022. június

QIAsymphony® DSP DNA Mini Kit használati útmutató (Protokoll lap)

DNA_Blood_200_V7_DSP protokoll

2. verzió



In vitro diagnosztikai használatra

A QIAsymphony DSP DNA Mini Kit készletekkel való használatra (192)



REF

937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Németország

R1

A protokoll lap elektronikus formátumban áll rendelkezésre, és a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.

Általános információk

A QIASymphony DSP DNA Kit in vitro diagnosztikai használatra szolgál.

Ez a protokoll a friss vagy fagyasztott humán teljes vérből származó összes genomális és mitokondriális DNS megtisztítására szolgál QIASymphony SP készülék és QIASymphony DSP DNA Mini Kit alkalmazásával.

Kit	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (katalógusszám: 937236)
Mintaanyag	Humán teljes vér (EDTA-val, citráttal vagy heparinnal alvadásgátolt)
Protokoll neve	DNA_Blood_200_V7_DSP
Alapértelmezett assay-kontrollkészlet	ACS_Blood_200_V7_DSP
Szerkeszthető	Elúciós térfogat: 50, 100 és 200 µl
Szükséges szoftververzió	4.0-s vagy későbbi verzió
Szükséges szoftverkonfiguráció IVD felhasználáshoz	1. alapértelmezett profil

„Sample” (Minta) fiók

Mintatípus	Humán teljes vér (EDTA-val, citráttal vagy heparinnal alvadásgátolt)
Mintatérfogat	Az alkalmazott mintacső típusától függ; a további információkat lásd a laborszakozók listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.
Elsődleges mintacsövek	A további információkat lásd a laborszakozók listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.
Másodlagos mintacsövek	A további információkat lásd a laborszakozók listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.
Inzertek	Az alkalmazott mintacső típusától függ; a további információkat lásd a laborszakozók listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.

„Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiók

A1 és/vagy A2 pozíció	Reagenskazetta (RC)
B1 pozíció	n.a.
Hegyalvány-tartó, 1–17.	Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 200 vagy 1500 µl
1–4. számú egységdoboz-tartó	Minta-előkészítő kazettákat vagy 8-Rod Covers burkolatokat tartalmazó egységdobozok

n.a. = nem alkalmazható.

„Waste” (Hulladék) fiók

1–4. számú egységdoboz-tartó	Üres egységdobozok
Hulladékgyűjtő zsák tartója	Hulladékgyűjtő zsák
Folyékonyhulladék-gyűjtő palack tartója	Üres folyékonyhulladék-gyűjtő palack

„Eluate” (Eluátum) fiók

Elúciós állvány (az 1. nyílás, hűtő pozíció alkalmazását javasoljuk)

A további információkat lásd a laborszerek listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.

Szükséges műanyag eszközök

Műanyag eszköz	Egy köteg, 24 minta*	Két köteg, 48 minta*	Három köteg, 72 minta*	Négy köteg, 96 minta*
Disposable filter-tips, 200 µl [†]	26	50	74	98
Disposable filter-tips, 1500 µl [†]	86	164	242	320
Sample prep cartridges [§]	18	36	54	72
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Ha kötegenként 24-nél kevesebb mintát használ, csökken a futtatásonként szükséges egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek száma.

[†] Egy hegytartó állványon 32 darab szűrővel rendelkező hegy van.

[‡] Szűrővel rendelkező hegyek száma reagenskazettánként, az 1 leltárellenőrzéshez szükséges szűrővel rendelkező hegyeket is beleszámítva.

[§] Egy egységdoboz 28 minta-előkészítő kazettát tartalmaz.

[¶] Egy egységdoboz tizenkét 8-Rod Covers burkolatot tartalmaz.

Megjegyzés: A beállítások függvényében a szűrővel rendelkező hegyek megadott száma eltérhet az érintőképernyőn megjelenített számoktól. A lehető legnagyobb számú hegy betöltését javasoljuk.

Elúciós térfogat

Az elúciós térfogat ki van választva az érintőképernyőn. A minta típusától és DNS-tartalmától függően a végső eluátum akár 15 µl-rel is kevesebb lehet, mint a kiválasztott térfogat. Mivel az eluátum térfogata változhat, javasoljuk, hogy az átvitelt megelőzően az eluátum térfogatát nem ellenőrző automata assay-beállítási rendszer alkalmazása esetén ellenőrizzék a tényleges eluátumtérfogatot. A kisebb térfogattal végzett eluálás növeli a végső DNS-koncentrációt, de kissé csökkenti a hozamot. A tervezett későbbi („downstream”) alkalmazáshoz megfelelő elúciós térfogat használatát javasoljuk.

A mintaanyag előkészítése

Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információk a megfelelő biztonsági adatlapokon (Safety Data Sheets, SDS-ek) találhatóak, amelyek az adott termék gyártójától szerezhető be.

Az általános mintagyűjtési, szállítási és tárolási ajánlásokért lásd a jóváhagyott CLSI irányelvet, MM13-A „Minták gyűjtése, szállítása, előkészítése és tárolása molekuláris módszerekhez”. Továbbá, a minta előkészítése, tárolása, szállítása és általános kezelése során be kell tartani a kiválasztott mintavételi eszköz gyártójának utasításait.

A vérvételi cső gyártójának utasításaitól függetlenül a vénás teljes vérből való automatizált gDNS-extrakció során az ISO 20186-2:2019 (E) szabványt kell figyelembe venni.

Humán teljes vér

EDTA-val, citráttal vagy heparinnal kezelt teljesvér-minták használhatók, amelyek lehetnek frissek vagy fagyasztottak. Friss vérminták elsődleges csövekben történő alkalmazása esetén keverje össze alaposan a vérmintákat (pl. a csövek többszöri megfordításával), mielőtt betöltené őket a QIASymphony SP készülékbe. A fagyasztott mintákat az eljárás megkezdése előtt 37 °C-os vízfürdőben gyorsan ki kell olvasztani, eközben az alapos elkeveredés érdekében enyhe mozgatás szükséges, majd a mintákat szobahőmérsékletre kell hozni (15–25 °C). A megbízható mintaátvitel érdekében kerülni kell a hab kialakulását a mintacsövekben. Próbálja meg elkerülni a vérrögök kialakulását a mintákban, illetve ha szükséges, mérje át a mintát egy friss csőbe a vérrögök nélkül.

A hozam és a tisztított DNS minősége a vér tárolási körülményein múlik. A frissebb vérminták jobb eredményeket hozhatnak. Legfeljebb 10 napos, rövid távú tároláshoz a 2–8 °C-on történő tárolás ajánlott. Azonban a maximális fragmentumméretet igénylő alkalmazásokhoz, mint például a southern blot eljárás, csupán legfeljebb 3 napig javasoljuk a 2–8 °C-on történő tárolást, mivel ezt követően kismértékű DNS-bomlás lép fel. Hosszú távú tároláshoz (több mint 10 nap) a vért standard antikoagulánst (lehetőség szerint EDTA-t, ha nagy molekulatömegű DNS-re van szükség) tartalmazó csövekbe gyűjtse, és tárolja -20 °C-on vagy -80 °C-on.

Megjegyzés: A minták stabilitása nagymértékben függ különböző tényezőktől, és az adott downstream alkalmazáshoz kapcsolódik. Meghatározását a QIASymphony DSP DNA Mini Kit esetében példa downstream alkalmazásokkal végezték el. A felhasználó felelőssége a laboratóriumban alkalmazott specifikus downstream alkalmazás használati útmutatójának tanulmányozása és/vagy a teljes munkafolyamat validálása a megfelelő tárolási feltételek megállapítása érdekében.

Az eluátumok tárolása

A futtatás befejeződését követően javasolt haladéktalanul kivenni az eluátumlemez az „Eluate” (Eluátum) fiókból. Az elúciós lemezek a QIASymphony SP készülékben hagyhatók, miután éjszaka befejeződött a futtatás (legfeljebb 12 óra, beleértve a futtatási időt; javasolt környezeti feltételek: 18–26 °C hőmérséklet és 20–75% relatív páratartalom). A hőmérséklettől és a páratartalomtól függően páralecsapódás vagy párolgás fordulhat elő az eluátumban.

Az eluátumok rövid távon, legfeljebb 2 hétig szobahőmérsékleten tárolhatók. Hosszú távú tárolás esetén 2–8 °C-on, -20 °C-on vagy -80 °C-on történő tárolás javasolt. A fagyasztott eluátumokat legfeljebb háromszor lehet kiolvasztani.

Megjegyzés: Az eluátum stabilitása nagymértékben függ különböző tényezőktől, és az adott downstream alkalmazáshoz kapcsolódik. Meghatározását a QIASymphony DSP DNA Mini Kit esetében példa downstream alkalmazásokkal végezték el. A felhasználó felelőssége a laboratóriumban alkalmazott specifikus downstream alkalmazás használati útmutatójának tanulmányozása és/vagy a teljes munkafolyamat validálása a megfelelő tárolási feltételek megállapítása érdekében.

A kezdés előtt figyelembe veendő fontos szempont

- Előfordulhat, hogy a QIASymphony mágneses részecskéi egyidejűleg az RNS tisztítását is elvégzik, amennyiben jelen van a mintában. A minta RNS-tartalmának csökkentése érdekében az eljárás megkezdése előtt adjon RNase A-t a mintához. A végső RNase A koncentrációnak 2 mg/ml-nek kell lennie.

Korlátozások és zavaró anyagok





A vérmintákban a trigliceridek magas koncentrációja (>30 g/l) csökkent gDNS-hozamot okozhat.

Megjegyzés: A vizsgálatot példa downstream alkalmazásokkal végezték az extrahált nukleinsavak minőségének értékelése érdekében. Azonban az eltérő downstream alkalmazásokhoz eltérő tisztaságra lehet szükség (pl. a potenciálisan zavaró anyagok hiánya), ezért az adott anyagok azonosítása és vizsgálata szükséges a downstream alkalmazás kidolgozása során, a QIASymphony DSP DNA Mini Kitet alkalmazó munkafolyamatok esetében.

Megjegyzés: Vegye figyelembe, hogy a QIASymphony DSP DNA Mini Kit kidolgozása során nem figyeltek meg arra utaló jelet, hogy a heparin negatívan befolyásolja a teljesítményt. Azonban az ISO 20186-2:2019(E) szabvány kimondja, hogy a vérvételi csövekben lévő heparin befolyásolhatja az izolált nukleinsavak tisztaságát, és annak átszennyezése az eluátumba gátlást okozhat egyes downstream alkalmazások esetében. Ezért a felhasználó felelőssége annak validálása, hogy a heparin negatívan befolyásolja-e a munkafolyamatot.

Szimbólumok

A dokumentumban az alábbi szimbólumok szerepelnek. A használati útmutatóban vagy a csomagoláson és címkéken használt szimbólumok teljes listáját lásd a kézikönyvben.

Szimbólum	A szimbólum meghatározása
	Ez a termék megfelel az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökre vonatkozó 2017/746 számú európai rendelet követelményeinek.
	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Katalógusszám
Rn	Az R a Használati útmutató átdolgozását, az n pedig az átdolgozás számát jelöli
	Gyártó

Átdolgozási előzmények

Átdolgozás

R1, 2022. június

Leírás

2. verzió, 1. átdolgozás

- Frissítés a 2. verzióra az IVD megfelelőséghez
- Korlátozások és zavaró anyagok című rész hozzáadása
- Az eluátumok tárolása című rész hozzáadása
- Szimbólumok című rész hozzáadása
- A mintaanyag előkészítése című rész frissítése

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN® kit kézikönyvében vagy felhasználói útmutatójában található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói kézikönyvei a www.qiagen.com webhelyen érhetők el, illetve a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

Védjegyek: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN csoport). A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvény védelmén kívül esőnek, ha nincsenek külön jelöléssel ellátva.
06/2022 HB-3029-S01-001 © 2022 QIAGEN, minden jog fenntartva.