

декември, 2017 г.

Страница от протокол QIAasymphony[®] SP

Протокол DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP

Този документ е страница от протокол DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP QIAasymphony SP, R3, с QIAasymphony DSP DNA Mini Kit, версия 1.

Обща информация

QIAasymphony DSP DNA Kit е предназначен за ин витро диагностика.

Този протокол е предназначен за пречистване на цяла геномна и митохондриална ДНК от пресен или замразен слой съсирена кръв с използване на QIAasymphony SP и QIAasymphony DSP DNA Midi Kit.

Набор	QIAasymphony DSP DNA Midi Kit (кат. № 937255)
Материал на пробата	Слой съсирена кръв (антикоагулант EDTA, цитрат или хепарин)
Име на протокола	DNA_BC_400_V6_DSP
Набор по подразбиране за контрол на анализа	ACS_BC_400_V6_DSP
Редактируем	Обем на елуиране: 200 µl, 400 µl
Необходима софтуерна версия	Версия 4.0 или по-висока

Чекмедже „Sample“ (Проба)

Вид проба	Слой съсирена кръв (антикоагулант EDTA, цитрат или хепарин)
Обем на пробата	Зависи от вида на използваната епруветка за проба, вижте www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Първични епруветки за проби	Неприложимо
Вторични епруветки за проби	За допълнителна информация вижте www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Вложки	Зависи от вида на използваната епруветка за проба, вижте www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

n/a = неприложимо.

Чекмедже „Reagents and Consumables“ (Реактиви и консумативи)

Позиция A1 и/или A2	Касета за реактив
Позиция B1	Неприложимо
Държач на стойка за крайници 1 – 17	Филтърни крайници за еднократна употреба, 200 µl или 1500 µl
Държач на кутия 1 – 4	Кутии, съдържащи касети за подготовка на проби или капази 8-Rod

n/a = неприложимо.

Чекмедже „Waste“ (Отпадък)

Държач на кутия 1 – 4	Празни кутии
Държач за торба за отпадъци	Торба за отпадъци
Държач за бутилка за течни отпадъци	Празна бутилка за течни отпадъци

Чекмедже „Eluate“ (Елуат)

Стойка за елуиране (препоръчваме използване на слот 1, позиция за охлаждане)	За допълнителна информация вижте www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
--	---

Необходимо пластмасово лабораторно оборудване

	Една партида, 24 проби*	Две партии, 48 проби*	Три партии, 72 проби*	Четири партии, 96 проби*
Филтърни накрайници за еднократна употреба, 200 µl†	4	4	4	8
Филтърни накрайници за еднократна употреба, 1500 µl††	110	212	314	424
Касети за подготовка на проби§	18	36	54	72
Капази 8-Rod¶	3	6	9	12

* Използването на по-малко от 24 проби на партида намалява броя на върховете за еднократна употреба, необходими за всяка серия.

† В една стойка за филтърни накрайници има 32 филтърни накрайника.

‡ Броят на необходимите филтърни накрайници включва филтърни накрайници за 1 инвентарно сканиране на касета с реагент.

§ В една кутия има 28 касети с проби.

¶ В една кутия има дванадесет капака 8-Rod.

Забележка: В зависимост от настройките, посоченият брой на филтърните накрайници може да се различава от броя, показван на сензорния екран. Препоръчваме зареждане на максималния възможен брой накрайници.

Обем на елуиране

Обемът на елуиране се избира върху сензорния екран. В зависимост от вида на пробата и съдържанието на ДНК окончателният обем на елуата може да варира до 15 µl по-малко от избрания обем. Поради факта, че обемът на елуата може да варира, когато използвате автоматизирана система за анализ, която не проверява обема на елуата преди прехвърляне, препоръчваме да проверите действителния обем на елуата. Елуирането в по-малки обеми увеличава крайната концентрация на ДНК, но леко понижава добива. Препоръчваме да използвате обем на елуиране, подходящ за предвидения последващ анализ по веригата.

Подготовка на материала на пробата

Когато работите с химикали, винаги носете подходящо лабораторно облекло, ръкавици за еднократна употреба и предпазни очила. За повече информация се обърнете към съответните информационни листове за безопасност (ИЛБ), предоставени от доставчика на продукта.

Важно указание, преди да започнете

- Магнитните частици QIASymphony могат да пречистят РНК, ако тя присъства в пробата. За да се сведе до минимум съдържанието на РНК в пробата, преди да започнете процедурата, добавете към пробата RNase A. Крайната концентрация на RNase A трябва да бъде 2 mg/ml.

Слой съсирена кръв

Слоят съсирена кръв е фракция на цяла кръв, обогатена на левкоцити. Ефективността на обогатяването с левкоцити зависи от процедурата, използвана за подготовка на слоя съсирена кръв, и прецизността, с която е извлечен слой съсирена кръв. Пригответе слой съсирена кръв чрез центрофугиране на проби от цяла кръв, съдържащи стандартен антикоагулант (EDTA, цитрат или хепарин), при 900 – 1100 x g в продължение на 10 минути при стайна температура (15 – 25° C). След центрофугиране се разграничават 3 различни фракции: горният прозрачен слой е плазма; междинният слой е слой съсирена кръв, съдържащ концентрирани левкоцити; а долният слой съдържа концентрирани еритроцити. От 10 ml центрофугирана цяла кръв трябва да бъде събрана приблизително 1 ml фракция, съдържаща левкоцити, което средно представлява 5 – 6-кратно обогатяване. Например 10 ml цяла кръв с брой на бели кръвни клетки 6×10^6 клетки/ml позволява получаване на 1 ml слой съсирена кръв. Ако приемем 5-кратно обогатяване на белите кръвни клетки, това означава 3×10^7 клетки/ml. Следователно в протокол, използващ 400 µl слой съсирена кръв, ще бъдат използвани $1,2 \times 10^7$ клетки.

За да се избегне претоварване на процедурата за пречистване на ДНК, не подготвяйте проби от слой съсирена кръв с обогатяване, > 10 пъти. Ако пробите от слоя съсирена кръв са с обогатяване > 10 пъти, разрежете пробите с PBS до 10-кратно или по-малко обогатяване или използвайте по-малко изходен материал в процедурата за пречистване на ДНК.

Пробите от слой съсирена кръв могат да се използват веднага или да се съхраняват при -20° C или -70° C за пречистване на ДНК на по-късна дата. Замразените проби трябва да се размразят бързо във водна баня с температура 37° C, с леко разбъркване, за да се осигури пълно смесване, след което да се темперират до стайна температура (15 – 25° C) преди започване на процедурата. За да се осигури надеждно прехвърляне на пробите, избягвайте да генерирате пяна в епруветките за проби. Опитайте се да избегнете образуването на кръвни съсиреци в пробите и, ако е необходимо, прехвърлете пробата без съсиреци в нова епруетка.

История на редакции

История на редакциите на документа	
R3 12/2017	Актуализация на софтуер QIASymphony Software, версия 5.0

За актуална информация относно лицензирането и конкретните за продуктите правни бележки вижте ръководството или наръчника за потребителя на набора QIAGEN®. Ръководствата и наръчниците за потребителя на набора QIAGEN са достъпни на адрес **www.qiagen.com** или могат да бъдат заявени от отдела за технически услуги на QIAGEN или местния ви дистрибутор.

Търговски марки: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (група QIAGEN Group). Регистрираните имена, търговските марки и т.н., използвани в този документ, дори ако не са изрично обозначени като такива, не трябва да се считат за незащитени от закона.
12/2017 HB-0977-S06-003 © 2017 QIAGEN, всички права запазени.

Поръчване www.qiagen.com/shop | Техническа поддръжка support.qiagen.com | Уебсайт www.qiagen.com