
2017. gada decembris

QIASymphony[®] SP protokola lapa

DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP protokols

Šis dokuments ir DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP *QIASymphony SP protokola lapa*, R3, QIASymphony DSP DNA Mini Kit versijai 1.

Vispārīga informācija

QIAsymphony DSP DNS komplekts ir paredzēts lietošanai in vitro diagnostikā.

Šis protokols ir paredzēts kopējās genoma un mitohondriju DNS attīrīšanai no svaiga vai sasaldēta leikocītu un trombocītu centrifugāta slāņa, izmantojot sistēmu QIAsymphony SP un QIAsymphony DSP DNA Midi Kit.

| | |
|---|---|
| Komplekts | QIAsymphony DSP DNA Midi Kit (kat. nr. 937255) |
| Parauga materiāls | Leikocītu un trombocītu centrifugāta slānis (apstrādāts ar EDTA, citrātu vai heparīnu, lai novērstu sarecēšanu) |
| Protokola nosaukums | DNA_BC_400_V6_DSP |
| Noklusējuma testu kontrolšķīdumu komplekts | ACS_BC_400_V6_DSP |
| Rediģējams | Eluāta tilpums: 200 µl, 400 µl |
| Nepieciešamā programmatūras versija | Versija 4.0 vai jaunāka |

Nodalījums “Sample” (Paraugs)

| | |
|------------------------------------|---|
| Parauga veids | Leikocītu un trombocītu centrifugāta slānis (apstrādāts ar EDTA, citrātu vai heparīnu, lai novērstu sarecēšanu) |
| Parauga tilpums | Atkarīgs no izmantotā paraugu stobriņa veida; papildinformāciju skatiet vietnē www.qiagen.com/goto/dsphandbooks . |
| Primārie paraugu stobriņi | N/p |
| Sekundārie paraugu stobriņi | Papildinformāciju skatiet vietnē www.qiagen.com/goto/dsphandbooks . |
| Ieliktni | Atkarīgs no izmantotā paraugu stobriņa veida; papildinformāciju skatiet vietnē www.qiagen.com/goto/dsphandbooks . |

N/p = nav piemērojams.

Nodalījums “Reagents and Consumables” (Reaģenti un izejmateriāli)

| | |
|-------------------------------------|---|
| Pozīcija A1 un/vai A2 | Reaģentu kasetne |
| Pozīcija B1 | N/p |
| Uzgaļu statīva turētājs 1–17 | Vienreiz lietojami filtra uzgaļi, 200 µl vai 1500 µl |
| Ierīces bloka turētājs 1–4 | Ierīču bloki ar paraugu sagatavošanas kasetnēm vai 8 stieņu pārsegumiem |

N/p = nav piemērojams.

Nodalījums "Waste" (Atkritumi)

| | |
|-----------------------------------|-------------------------------|
| Ierīces bloka turētājs 1–4 | Tukši ierīču bloki |
| Atkritumu maisa turētājs | Atkritumu maiss |
| Šķidro atkritumu pudeles turētājs | Tukša šķidro atkritumu pudele |

Nodalījums "Eluate" (Eluāts)

| | |
|---|---|
| Eluēšanas stātvīns (ieteicams izmantot 1. atveri dzesēšanas pozīcijā) | Papildinformāciju skatiet vietnē www.qiagen.com/goto/dsphandbooks . |
|---|---|

Nepieciešamie plastmasas piederumi

| | Viena sērija, 24 paraugi* | Divas sērijas, 48 paraugi* | Trīs sērijas, 72 paraugi* | Četras sērijas, 96 paraugi* |
|---|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| Vienreiz lietojami filtra uzgaļi, 200 µl† | 4 | 4 | 4 | 8 |
| Vienreiz lietojami filtra uzgaļi, 1500 µl†† | 110 | 212 | 314 | 424 |
| Paraugu sagatavošanas kasetnes‡ | 18 | 36 | 54 | 72 |
| 8 stieņu pārsegi¶ | 3 | 6 | 9 | 12 |

* Ja katrā sērijā izmantosit mazāk nekā 24 paraugus, tiks samazināts katrā testā nepieciešamo vienreizējas lietošanas filtra uzgaļu skaits.

† Katrā uzgaļu stātvīnā ir pieejami 32 filtra uzgaļi.

†† Nepieciešamajā filtra uzgaļu skaitā ir iekļauti filtra uzgaļi 1 inventāra skenēšanai katrā reaģenta kasetnē.

‡ Katrā ierīces blokā ir 28 paraugu sagatavošanas kasetnes.

¶ Katrā ierīces blokā ir divpadsmit 8 stieņu pārsegi.

Piezīme. Filtra uzgaļu skaits var atšķirties no skārienekrānā parādītā skaita atkarībā no iestatījumiem. Ieteicams ievietot maksimālo iespējamo uzgaļu skaitu.

Eluāta tilpums

Eluāta tilpums jāizvēlas skārienekrānā. Atkarībā no parauga veida un DNS satura galīgais eluāta tilpums var būt par līdz pat 15 µl mazāks nekā atlasītais tilpums. Tā kā eluāta tilpums var atšķirties, ieteicams pārbaudīt faktisko eluāta tilpumu, kad izmantojat automatizētu testu komplekta sistēmu, kas nepārbauda eluāta tilpumu pirms pārneses. Eluēšana ar mazāku tilpumu palielina galīgo DNS koncentrāciju, tomēr nedaudz samazina ieguves apjomu. Ieteicams izmantot tādu eluāta tilpumu, kas ir piemērots paredzētajam leļupvērstajam lietojumam.

Parauga materiāla sagatavošana

Strādājot ar ķīmiskām vielām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles. Lai saņemtu papildinformāciju, iepazīstieties ar attiecīgajām drošības datu lapām (Safety Data Sheets, SDS), kas ir pieejamas pie produkta piegādātāja.

Svarīga informācija pirms darba sākšanas

- QIASymphony magnētiskās daļiņas var kopattīrīt RNS, ja tā atrodama paraugā. Lai līdz minimumam samazinātu RNS saturu paraugā, pirms procedūras pievienojiet paraugam RNāzi A darbībā. Galīgajai RNāzes A koncentrācijai jābūt 2 mg/ml.

Leikocītu un trombocītu centrifugāta slānis

Leikocītu un trombocītu centrifugāta slānis ir pilnasiņu daļa, kas bagātināta ar leikocītiem. Leikocītu bagātināšanas efektivitāte ir atkarīga no procedūras, kas izmantota leikocītu un trombocītu centrifugāta slāņa sagatavošanai, un precizitātes, ar kādu leikocītu un trombocītu centrifugāta slānis ir izgūts. Sagatavojiet leikocītu un trombocītu centrifugāta slāni, centrifugējot pilnasiņu paraugus ar standarta antikoagulantu (EDTA, citrātu vai heparīnu) režīmā 900–1100 x g 10 minūtes istabas temperatūrā (15–25 °C). Pēc centrifūgas var noteikt 3 dažādas daļas: augšējais dzidrais slānis ir plazma, vidējais slānis ir leikocītu un trombocītu centrifugāta slānis, kas satur koncentrētus leikocītus, savukārt apakšējais slānis satur koncentrētus eritrocītus. No 10 ml centrifugētu pilnasiņu jāiegūst apmēram 1 ml leikocītus saturošas daļas, kas vidēji nodrošina bagātināšanu par 5–6 reizēm. Piemēram, no 10 ml pilnasiņu ar balto asins šūnu skaitu 6×10^6 šūnas/ml iegūst 1 ml leikocītu un trombocītu centrifugāta slāņa. Pieņemot 5 reižu bagātinājumu ar baltajām asins šūnām, rezultāts ir 3×10^7 šūnas/ml. Tādēļ protokolā, kas izmanto 400 µl leikocītu un trombocītu centrifugāta slāņa, tiks izmantots $1,2 \times 10^7$ šūnu.

Lai nepārslogotu DNS attīrīšanas procedūru, negatavojiet leikocītu un trombocītu centrifugāta slāņa paraugus, kuros bagātinājums pārsniedz 10 reizes. Ja leikocītu un trombocītu centrifugāta slāņa paraugos bagātinājums pārsniedz 10 reizes, atšķaidiet paraugus, līdz iegūstat 10 reižu vai mazāku bagātinājumu. Šim nolūkam izmantojiet PBS vai DNS attīrīšanas procedūrā izmantojiet mazāk sākuma materiāla.

Leikocītu un trombocītu centrifugāta slāņa paraugus var izmantot uzreiz vai glabāt –20 °C vai –70 °C temperatūrā un attīrīt DNS vēlāk. Sasaldētus paraugus ieteicams ātri atkausēt ūdens peldē 37 °C temperatūrā, nedaudz samaisot (tas ir nepieciešams, lai paraugs būtu vienmērīgs), un pēc tam ļaut sasniegt istabas temperatūru (15–25 °C) pirms procedūras sākuma. Lai gādātu par uzticamu paraugu pārnesi, izvairieties no putu rašanās paraugu stobriņos. Mēģiniet izvairīties no asins recekļu veidošanās paraugos un, ja nepieciešams, pārnesiet paraugu bez recekļiem svaigā stobriņā.

Pārskatījumu vēsture

| Dokumenta pārskatījumu vēsture | |
|--------------------------------|---|
| R3 12/2017 | QIASymphony programmatūras versijas 5.0 atjauninājums |

Jaunāko informāciju par licencēšanu, kā arī uz konkrētiem izstrādājumiem attiecināmas atrunas skatiet attiecīgā QIAGEN® komplekta rokasgrāmatā vai lietotāja instrukcijās. QIAGEN komplektu lietotāja rokasgrāmatas un lietotāja instrukcijas ir pieejamas www.qiagen.com, kā arī tās var pieprasīt QIAGEN tehniskā atbalsta centros vai pie vietējiem preču izplatītājiem.

Preču zīmes: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN grupa). Nedrīkst uzskatīt, ka šajā dokumentā minētos reģistrētos nosaukumus, preču zīmes u.c. neaizsargā likums, pat ja pretējais nav īpaši norādīts.
12/2017 HB-0977-S06-003 © 2017 QIAGEN, visas tiesības aizsargātas.

Pasūtīšana: www.qiagen.com/shop | Tehniskais atbalsts: support.qiagen.com | Tīmekļa vietne: www.qiagen.com