

2017. március

QIAsymphony[®] DSP Circulating DNA Kit Használati útmutató (Kézikönyv)



192

1. Kiadás



In vitro diagnosztikai használatra



937556



QIAGEN GmbH,
QIAGEN Strasse 1,
40724 Hilden
GERMANY



1103177

Tartalomjegyzék

Rendeltetésszerű használat	3
Összefoglalás és magyarázat	3
Az eljárás alapelvei	4
Biztosított anyagok.....	6
A kit tartalma	6
Felhasználó által biztosítandó eszközök reagensek.....	7
Figyelmeztetések és óvintézkedések	8
Reagens tárolás és kezelés	10
A kit tartalma	10
A minta gyűjtése és előkészítése.....	11
Eljárás	12
A QIASymphony SP készüléken történő automata izolálás.....	12
Protokoll: Cirkuláló sejtmentes DNS tisztítása.....	18
Minőségellenőrzés	21
Korlátozások	21
Jelmagyarázat	22
Hibaelhárítási útmutató.....	25
Függelék: Cirkuláló sejtmentes DNS kvantifikálása	29
Rendelési információ.....	30

Rendeltetészerű használat

A QIASymphony DSP Circulating DNA Kit mágneses-részecske alapú technológiát alkalmaz, mely a biológiai mintákból történő humán eredetű cirkuláló, sejtmentes-DNS automatizált izolálására és tisztítására szolgál.

A terméket szakembereknek, például molekuláris biológiai technikában képzett szakembereknek és orvosoknak javasolt használnia.

A QIASymphony DSP Circulating DNA Kit in vitro diagnosztikai használata javasolt.

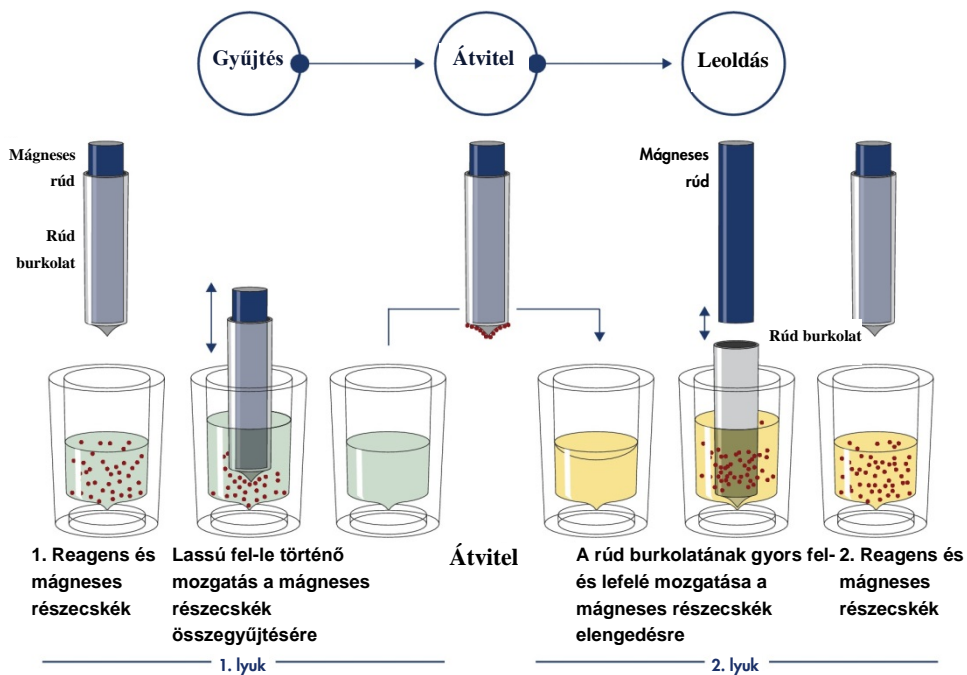
Összefoglalás és magyarázat

A cirkuláló sejtmentes nukleinsavak (ccfDNS-ek) a plazmában vagy a vizeletben találhatóak, általában rövid fragmensek formájában, <1000 bp (DNS) <1000 nt (RNS), vagy kevesebb, mint 20 nt (miRNS-ek) hosszúságban. A biológiai mintákban, mint például a plazmában vagy a vizeletben lévő cirkuláló, sejtmentes nukleinsavak koncentrációja általában alacsony és egyéntől függően változhat. A ccfDNS koncentrációja 1–100 ng/ml tartományban lehet. A QIASymphony DSP Circulating DNA rendszer egy használatra kész in vitro rendszer, mely a QIASymphony SP készüléken történő humán plazmából és vizeletből való humán cirkuláló, sejtmentes DNS kvalitatív tisztítására alkalmas.

A QIASymphony DSP Circulating DNA Kit a teljes automatizáláshoz és a biológiai mintákból történő humán ccfDNS egyidejű tisztítására minden reagenst tartalmaz. Az összes vérvételi csőhöz tartozó teljesítmény mutatót nem állapították meg, azt a felhasználónak kell igazolnia/validálnia. A mágneses-részecske alapú technológia lehetővé teszi a nukleinsavak kiváló minőségű tisztítását, melyek fehérjéktől, nukleázoktól és egyéb szennyeződésektől mentesek. A tisztított ccfDNS a downstream applikációk széles tartományában alkalmazható. A QIASymphony SP a tisztítási eljárás minden lépését elvégzi. Maximum 96 minta, 24-es kötegekben (batch), egy futásban kerül feldolgozásra. A vizeletminták manuális mintaelőkészítést igényelhetnek.

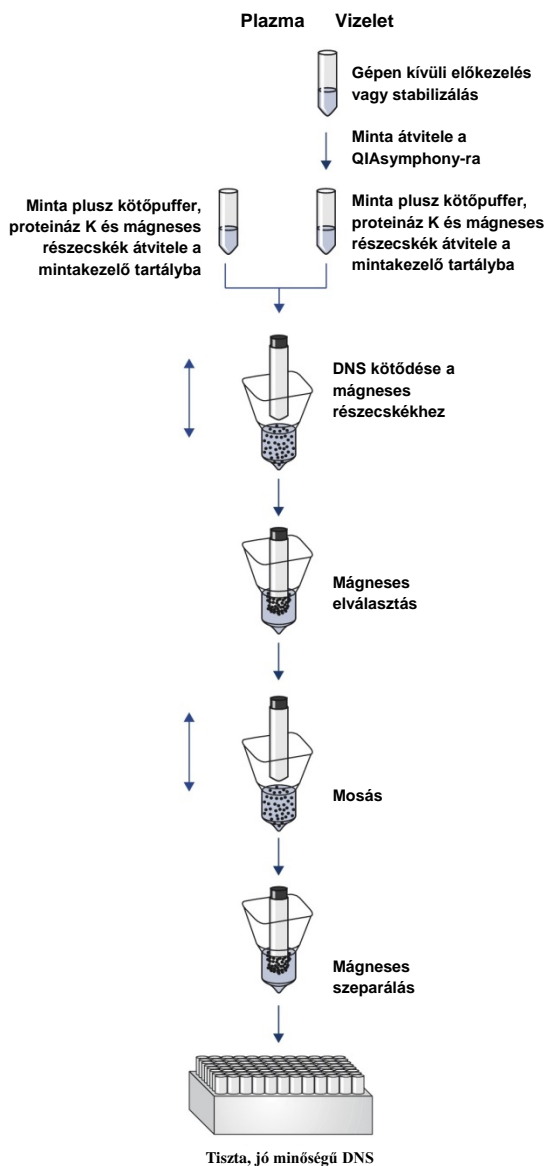
Az eljárás alapelvei

A QIASymphony technológia ötvözi az anioncsere alapú nukleinsav tisztítás sebességét és hatékonyságát a mágneses részecskék kényelmes, egyszerű kezelésével (1. ábra alább). A tisztítási eljárás a potenciálisan fertőző minták biztonságos és reprodukálható kezelésére szolgál, és 3 lépést tartalmaz: kötés, mosás és eluálás (lásd a folyamatábrát az 5. oldalon). A felhasználó különböző kiindulási minta térfogatok közül választhat.




1. ábra: A QIASymphony SP működési elvének vázlatos ábrája. A QIASymphony SP mágneses részecskéket tartalmazó mintákat dolgoz fel az alábbiak alapján: A mágneses rudat védő burkolat a mintát tartalmazó lyukba merül és vonzza a mágneses részecskéket. A mágneses rúd burkolata egy másik lyuk fölé pozícionál és a mágneses részecskéket elengedi. Ezek a lépéseket többször ismétlődnek a minta feldolgozása során. A QIASymphony SP 24 mágneses rúdból álló mágneses fejet használ és ezáltal egyidejűleg akár 24 mintát is feldolgozhat.

QIASymphony DSP Circulating DNS



Biztosított anyagok

A kit tartalma

QIASymphony DSP Circulating DNS Kit		(192)
Katalógusszám		937556
Reakciók száma		192
	Megnevezés	Mennyiség
RC	Reagens cartridge*  †	2
PROTK	QIAGEN Proteinase K	6 x 10 ml
PL	Lyukasztó Fedő	2
RSS	Újrahasználható Kupak Készlet (Reuse Seal Set) ‡	2
	Használati útmutató (Kézikönyv)	1

* Nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként.

† Lásd 22. oldal a jelölések és definíciók listájánál.

‡ Az Újrahasználható Kupak Készlet (Reuse Seal Set) 8 Újrahasználható kupak csíkot (Reuse Seal Strips) tartalmaz.

Felhasználó által biztosítandó eszközök reagensek

Vegyianyagokkal történő munka során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, eldobható kesztyűt és védőszemüveget. További információ érdekében tájékozódjon a megfelelő biztonsági adatlapokból (safety data sheets, SDSs), melyek a termék forgalmazójánál érhetők el.

Bizonyosodjon meg róla, hogy a készülék a gyártói utasításoknak megfelelően ellenőrzött és kalibrált.

- QIASymphony SP (Kat.szám 9001297)
- Mintakezelő tartályok (sample prep cartridge), 8 férőhelyes tartó (Kat.szám 997002)
- 8-as rúd burkolat (8 rodcover) (cat. no. 997004)
- Szűrővel ellátott pipettahegyek, 200 µl és 1500 µl (Kat.számok 990332 és 997024)
- Mintacsövek. A kompatibilis elsődleges és másodlagos csőformátumokhoz tekintse meg a laboratóriumi eszköz listát, amely a **www.qiagen.com** termékoldalának készlet (resources) füle alatt található.
- Elúciós csövek és lemezek. A kompatibilis elúciós cső és lemezformátumhoz tekintse meg a laboratóriumi eszköz listát, amely a **www.qiagen.com** termékoldalának készlet (resources) füle alatt található.
- Foszfát-pufferolt sóoldat (PBS, szükséges lehet a minta térfogatának kiegészítésére)
- Vortex keverő
- ATL Puffer (a vizelet minták előkezeléséhez; Kat.szám 939016)
- A vizeletminták előkezeléséhez és stabilizálásához szükséges további anyagokhoz kérjük, olvassa el a termékleírás forrásfül alatt található protokoll lapot **www.qiagen.com**.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

In vitro diagnosztikai használatra.

A kit használata előtt figyelmesen olvassa el az összes utasítást.

Vegyianyagokkal történő munka során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, eldobható kesztyűt és védőszemüveget. További információ érdekében tájékozódjon a megfelelő biztonsági adatlapokból (safety data sheets, SDSs). Ezek online felületen kényelmesen elérhetőek PDF formátumban a www.qiagen.com/safety oldalon, ahol megtalálhatja, megnézheti, letöltheti és kinyomtathatja minden egyes QIAGEN® kithez és kit komponenshez tartozó SDS lapot.

Figyelmeztetés Személyi sérülés veszélye



Ne adjon fehérítőszert vagy savas oldatot közvetlenül a mintaelőkészítés során keletkezett hulladékhoz.

A reagens cartridge-ban (RC) lévő pufferek nátrium-azidot tartalmaznak. Ha a kit pufferei kiömlöttek, tisztítsák fel megfelelő laboratóriumi detergenssel és vízzel. Ha a kiömlött folyadék potenciálisan fertőző anyagokat tartalmaz, az érintett területet először laboratóriumi detergenssel és vízzel, majd 1% (v / v) nátrium-hipoklorittal (hipó) tisztítsák meg.

A következő veszély és óvintézkedési megjegyzések vonatkoznak a QIASymphony DSP Circulating DNA Kit összetevőire.

MBS3

Tartalmaz: Nátrium-azidot. Figyelemmeztetés! Lenyelve ártalmas lehet. Ha rosszul érzi magát, forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz.

Proteináz K



Tartalom: Proteináz K. Veszély! Enyhe bőrirritációt okoz. Belélegezve allergiát vagy asztmás tüneteket vagy légzési nehézségeket okozhat. Kerülje a por / füst / gáz / köd / pára / permet belélegzését. A maradékot/tartályt egy engedélyezett hulladékmegsemmisítő üzembe juttassa el. Légzőrendszeri tünetek esetén: hívja fel a TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTOT, vagy forduljon orvoshoz / szakorvoshoz. BELÉLEGZÉS ESETÉN: Ha a légzés nehezített, akkor a sérültet friss levegőre kell vinni, és a légzésre kényelmes helyzetben, nyugalomban kell tartani. Viseljen légzés védő felszerelést, maszkot.

QSE2



Veszély! Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. A maradékot/tartályt egy engedélyezett hulladékmegsemmisítő üzembe juttassa el. HA SZEMBE KERÜL: Óvatosan öblítsük ki vízzel néhány percig. Távolítsa el a kontaktlencsét, ha volt a szemben és könnyen kezelhető. Folytassa az öblítést. HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Azonnal távolítsa el / vegye le az összes szennyezett ruhát. A bőrt vízzel / zuhannyal öblítse le. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz. Elzárva tárolja. Viseljen védőkesztyűt / védőruházatot / szemvédőt / arcvédőt.

QSW9



Tartalom: etanol. Veszély! Súlyos szemirritációt okoz. Tűzveszélyes folyadék és gőz. A maradékot/tartályt egy engedélyezett hulladékmegsemmisítő üzembe juttassa el. Ha a szemirritáció nem szűnik: orvosi ellátást kell kérni. Hőtől / szikrától / nyílt lángtól / forró felületektől távol tartandó. - Tilos a dohányzás. Tárolja jól szellőző

helyen. Hűtve tárolja. Viseljen védőkesztyűt / védőruházatot / szemvédőt / arcvédőt.

Reagens tárolás és kezelés

A QIASymphony DSP Circulating DNA kitet szobahőmérsékleten (15-25 °C) kell tárolni. A reagens tartókban (cartridge) (RC) a mágneses részecskék aktívak maradnak, ha ezen a hőmérsékleten tárolják.

Megjegyzés: A QIASymphony DSP Circulating DNA Kit címkéje jelzi a kit lejárat dátumát. Az eredményfájl kizárólag a reagens tartály (cartridge, RC) lejárat idejét dokumentálja.

Ne használja a QIASymphony DSP Circulating DNA Kit-et a lejárat után.

A kit tartalma

A QIASymphony DSP Circulating DNA Kit használatra kész Proteináz K oldatot tartalmaz, mely szobahőmérsékleten tárolható.

Ne tárolja a reagens tartókat (cartridge, RC) 15°C alatti hőmérsékleten.

A már használt reagens cartridge-ok (RC) legfeljebb 4 hétig tárolhatók, így költséghatékonyabb a reagens újrafelhasználása és rugalmasabb mintafeldolgozás is lehetséges. Ha egy reagens cartridge-ot (RC) részben használnak, tegye fel a mágneses részecskéket tartalmazó vályú kupakját, és a reagens cartridge-ot (RC) a mellékelt Újrahasználatos Kupak csíkkal "Reuse Seal Strips" azonnal zárja le a protokoll vége után, hogy elkerülje a párolgást.

Ahhoz, hogy elkerülje a párolgást a reagens cartridge-ot maximum 15 órán át (beleértve a futási időtartamot is) szabad nyitva hagyni, maximum 32 °C környezeti hőmérsékleten. A kit komponenseinek helytelen tárolása a pufferek gyorsabb öregedését okozzák.

Az alacsony mintaszámú (<24) futási adagok használata növeli mind a reagens cartridge-ok (RC) nyitott állapotának idejét, mind a szükséges puffermennyiséget, amely potenciálisan csökkenti a cartridge-onkénti lehetséges mintaelőkészítések teljes számát.

Kerülje a reagens cartridge-ok (RC) UV fénykitettséget (például UV dekontamináció), mivel az expozíció a reagenspatronok (RC) és pufferek gyorsított öregedését okozhatja.

A minta gyűjtése és előkészítése

Az automatizált eljárással (beleértve a speciális protokollokkal használható mintacsövekkel kapcsolatos információkat) és a specifikus mintaelőkezeléssel kapcsolatos további információkért tekintse meg a megfelelő weblaplapot, amely a **www.qiagen.com** termékoldal forrásoldalán található.

Eljárás

A QIASymphony SP készüléken történő automata izolálás

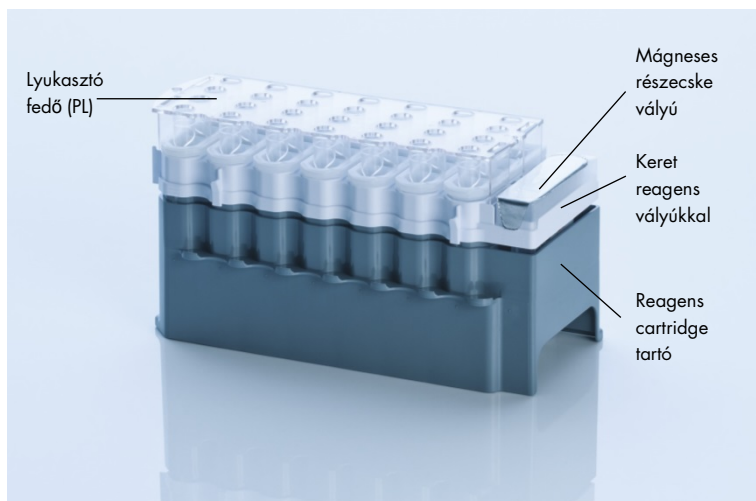
A QIASymphony SP automatizált mintaelőkészítési folyamata egyszerű és kényelmes. A mintákat, reagenseket, fogyóeszközöket és az eluátumokat különböző fiókokban különítik el. Egyszerűen töltsé be a mintákat, a speciális patronokban lévő reagenseket és előre előkészített fogyóeszközöket a megfelelő fiókba a futás előtt. Indítsa el a protokollt és vegye ki a tisztított DNS-t az Eluátum "Eluate" fiókból a feldolgozás után. Lásd a készülékhez mellékelt felhasználói kézikönyvet a használati utasításoknál.

Megjegyzés: Az opcionális karbantartás nem kötelező az eszköz működéséhez, de nagyon ajánlott a szennyeződés kockázatának csökkentése érdekében.

A rendelkezésre álló protokollok folyamatosan bővülnek, és további QIAGEN protokollok ingyenesen letölthetők a www.qiagen.com/goto/dsphandbooks címen.

A reagens cartridge-ok (RC) betöltése a Reagens és Eszközök "Reagents and Consumables" fiókba

A DNS tisztítására szolgáló reagenseket innovatív reagens cartridge-ok (RC) tartalmazzák (2. ábra, 13. oldal). A reagens cartridge (RC) minden vályújában egy adott reagens, például mágneses részecskék, kötőpuffer, mosópuffer vagy elúciós puffer van. A részlegesen használt reagens cartridge-ok (RC) az Újrahasználató Kupakcsík "Reuse Seal Strips" (RSS) használatával újra lezárhatóak későbbi, ismételt felhasználás céljából, amely a maradék reagensek miatt keletkező hulladék keletkezését elkerüli a tisztítási eljárás végén.



2. ábra: QIASymphony reagens cartridge (RC). A reagens cartridge-ok (RC) a protokoll futásához szükséges összes reagenst tartalmazzák.

Az eljárás megkezdése előtt bizonyosodjon meg arról, hogy a mágneses részecskék megfelelően fel vannak szuszpendálva. Távolítsa el a mágneses részecskéket tartalmazó vályút a reagens cartridge keretről, legalább 3 percig alaposan vortexelje, majd helyezze vissza a reagens cartridge keretre az első használat előtt.

Megjegyzés: A mágneses részecskék színe megváltozhat. Ez nem befolyásolja a teljesítményt.

Helyezze a reagens cartridge-ot (RC) a reagens cartridge tartóba. Mielőtt az első alkalommal használná a reagens cartridge-ot (RC) helyezze el a Lyukasztó (piercing) fedőt (PL) a reagens cartridge (RC) tetejére. (2. ábra, fenn).

Megjegyzés: A Lyukasztó fedő (PL) éles. Vigyázzon, amikor a reagens cartridge-ra (RC) helyezi. Győződjön meg róla, hogy a Lyukasztó fedőt (PL) a reagens cartridge-ra (RC) helyes irányba helyezte.

Miután a mágneses részecske tartó fedelét eltávolítottuk, a reagens cartridge-ot (RC) a Reagens és Eszközök "Reagents and Consumables" fiókba töltjük.

A részben használt reagens cartridge-ok (RC) a következő használatig tárolhatóak (lásd "Reagens tárolás és kezelés" 10. oldal).

Megjegyzés: A Proteinase K-t a www.qiagen.com termékoldalon található protokollban található információk alapján kell hozzáadni a reakcióhoz/izoláláshoz.

Megjegyzés: Győződjön meg róla, hogy a reagens cartridge-ok, a mágneses részecskék és a Proteináz K tartályok nem cserélődtek össze a különböző kit tételek között.

Műanyag eszközök betöltése a "Reagens és Eszközök" fiókba

A mintaelőkészítő cartridge-okat, a 8-as rúd burkolatot (mindkettő előkódolt egységdobozokban), és eldobható szűrős pipettahegyeket (200 µl-es pipettahegyek kék állványban, 1500 µl-es pipettahegyek fekete állványban) a Reagens és Eszközök "Reagents and Consumables" fiókba töltse be.

Megjegyzés: Győződjön meg róla, hogy az egységdobozok fedelét eltávolította, mielőtt azokat a Reagens és Eszközök "Reagents and Consumables" fiókba helyezné.

Megjegyzés: A pipettahegyek olyan szűrőket tartalmaznak, amelyek segítenek megakadályozni a keresztszennyeződést.

A QIASymphony SP munkaasztalon lévő pipettahegy tartókat fel lehet tölteni mindkét típusú pipettahegy tartóval. A QIASymphony SP azonosítja a betöltött pipettahegyeket a készlet ellenőrzés során.

Megjegyzés: Ne töltse újra a pipettahegy tartókat vagy az egységdobozokat a mintaelőkészítéshez vagy a 8 darab rúd burkolatot egy másik protokoll elindítása előtt. A

QIAsymphony SP a részben használt pipettahegy tartókat és egységdobozokat is tudja használni.

A szükséges kellékekhez tekintse meg a megfelelő protokoll lapot, amely a **www.qiagen.com** termékoldalon található meg. A műanyag termékek rendelési információit lásd a 30. oldalon.

A Hulladék "Waste" fiók betöltése

A futtatás során használt mintakezelő tartályokat és a 8-as rúd burkolatot a "Hulladék" fiókban lévő üres dobozokba gyűjti a rendszer. Győződjön meg róla, hogy a "Hulladék" fiók elegendő üres egység dobozokat tartalmaz a protokoll futásakor keletkezett műanyag hulladék tárolására.

Megjegyzés: Bizonyosodjon meg róla, hogy az egységdobozok fedelét eltávolította, mielőtt az egységdobozokat a "Hulladék" fiókba töltené. Ha 8-as rúdburkolat dobozokat használ a használt mintakezelő tartályok és 8-as rúd burkolatok gyűjtésére, győződjön meg arról, hogy a doboz (alján lévő) távtartót eltávolították.

A használt pipettahegyeket tartalmazó zsákot a "Hulladék" fiók elülső oldalához kell csatlakoztatni.

Megjegyzés: A pipettahegy hulladékzsák jelenlétét a rendszer nem ellenőrzi. Győződjön meg róla, hogy a pipettahegy hulladékzsák megfelelően van rögzítve a protokoll indítása előtt. További információkért tekintse meg a készülékhez mellékelt felhasználói kézikönyvet. Ūrítse ki a pipettahegyes hulladékzsákot, maximum 96 minta feldolgozása után, hogy elkerülje a pipettahegy elakadását.

A hulladék tartály a tisztítási eljárás során keletkezett folyadék hulladékot is gyűjtik. A "Hulladék" fiókot csak akkor zárhatja be, ha a hulladék tartály a helyén van. A folyékony hulladékot a helyi biztonsági és környezetvédelmi előírásoknak megfelelően távolítsa el. Ne

autoklávozzuk a folyadékkal telt palackot. Ürítse ki a hulladékpalackot maximum 96 minta feldolgozása után.

Az Eluátum "Eluate" fiók betöltése

Töltse be a szükséges elúciós racket az Eluátum "Eluate" fiókba. Mivel az eluátumok hosszú távú tárolása az Eluátum "Eluate" fiókban párologáshoz vagy kondenzációhoz vezethet, a hűtési pozíciót kell használni. Csak az első pozíciót (legbelül) "Elution slot 1" használja, a megfelelő hűtő adapterrel.

Készlet ellenőrzés

A futás megkezdése előtt a készülék ellenőrzi, hogy a sorban álló tétel(ek) (batch) számára elegendő fogyóeszköz van betöltve a megfelelő fiókokba.

A minta előkészítés

A QIASymphony DSP Circulating DNA Kit humán plazmából és vizeletből történő cirkuláló, sejtmentes DNS automata izolálására szolgál (1. táblázat, 17. oldal).

Meg kell akadályozni a habképződést a mintákban vagy a mintákon. A mintákon lévő hab rossz mintamennyiség pipettázásához vezethet. A kiindulási anyagtól függően a minta előkezelése szükséges lehet. A mintákat szobahőmérsékletre (15-25 °C) kell tartani a futtatás megkezdése előtt.

Az automatizált eljárással (beleértve a speciális protokollokkal használható mintacsövekkel kapcsolatos információkat) és a specifikus mintaelőkezeléssel kapcsolatos további információkért tekintse meg a megfelelő weblaplapot, amely a **www.qiagen.com** termékoldal forrásoldalán található.

DNS tárolás

A minta feldolgozása után az eluátumok 2-8 °C-on legfeljebb 1 hónapig tárolhatók. Az eluátumok hosszú távon -20 °C-on vagy -80 °C-on tárolhatók. A fagyasztott eluátumokat nem szabad háromnál többször felolvasztani

Protokoll áttekintés

1. táblázat: Protokoll áttekintés

Minta	Minta térfogat (µl)	Elúciós térfogat (µl)	QIASymphony SP protokoll
Plazma, vizelet	2000	60	circDNA_2000_DSP
	4000	60	circDNA_4000_DSP

Fontos pontok a kezdés előtt

- Győződjön meg róla, hogy ismeri a QIASymphony SP működését. A használati utasításokat lásd a készülékhez mellékelt felhasználói kézikönyvből.
- Az opcionális karbantartás nem kötelező az eszköz működéséhez, de nagyon ajánlott a szennyeződés kockázatának csökkentése érdekében.
- Az eljárás megkezdése előtt olvassa el a "Az eljárás alapelvei" című részt a 4. oldalon.
- Győződjön meg arról, hogy ismeri a használni kívánt eljárásnak megfelelő protokoll lapot. (A protokollal kapcsolatos lapok a www.qiagen.com termékoldal forrásoldalán található).
- Kerülje a reagens cartridge (RC) erőteljes rázását, ellenkező esetben hab keletkezhet, ami folyadékszint-detektálási problémákhoz vezethet.
- Az ATL puffert igénylő előkezelés megkezdése előtt ellenőrizze, hogy képződött-e csapadék az ATL pufferben. Szükség esetén a csapadékot oldja vissza melegítéssel

70 °C-os vízfürdőben való enyhe kevertetéssel. Távolítsuk el a buborékokat az ATL puffer felületéről.

Teendők a kezdés előtt

- Az eljárás megkezdése előtt bizonyosodjon meg arról, hogy a mágneses részecskék megfelelően fel vannak szuszpendálva. Távolítsa el a mágneses részecskéket tartalmazó vályút a reagens cartridge keretről, az első használat előtt legalább 3 percig alaposan vortexelje, majd helyezze vissza a reagens cartridge keretre.
- Győződjön meg róla, hogy a lyukasztó (Piercing) fedőt a reagens cartridge-ra helyezte, és a mágneses részecske vályú kupakját eltávolították, vagy ha már használt reagens cartridge-ot használ, győződjön meg arról, hogy az újrahasonosítható kupak csíkot eltávolították.
- A Proteináz K nincs a reagens cartridge-ban, de azt a felhasználónak biztosítani kell (mintatartó fiók, A nyílás, 1. és / vagy 2. pozíció). Győződjön meg arról, hogy a megfelelő proteináz K térfogat elérhető. (Részletes információért nézze meg a protokollt, amely a www.qiagen.com termékoldal forrásoldalán található.).
- Ha a minták vonalkóddal rendelkeznek, helyezze a mintákat a csőtartóba úgy, hogy a vonalkódok a vonalkód olvasó felé nézzenek a QIASymphony SP bal oldalán.
- Az egyes protokollokkal kompatibilis mintacsövekről a megfelelő laboratóriumi eszköz listában olvashat, amely a **www.qiagen.com** termékoldal forráslapján található.
- A másodlagos csövek minimum mintatérfogatáról az információkat a megfelelő laboratóriumi eszköz listában találja, mely a **www.qiagen.com** termékoldal forráslapján található.

Protokoll: Cirkuláló sejtmentes DNS tisztítása

Az alábbiakban egy általános protokoll található a QIASymphony DSP Kitek-et használatára. Az egyes protokollok részletes információi, beleértve a térfogatokat és a csöveket,

megtalálhatók a protokoll dokumentumban, amelyek a www.qiagen.com termékoldal forrásfűlén találhatók.

1. Zárja be az összes fiókot és a készülék fedelét.
2. Kapcsolja be a QIASymphony SP készüléket és várjon, amíg a **Mintaelőkészítés** “**Sample Preparation**” megjelenik a kijelzőn valamint az iniciálási folyamat befejeződik.
A bekapcsoló gomb a QIASymphony SP alsó, bal sarkában található.
3. Jelentkezzen be a készülékre.
4. Töltse be a megfelelő elúciós tartályt az Eluátum “Eluate” fiókba.
Ne töltsön be 96-well plate-et az “Elution slot 4” részébe. Az “Elution slot 1”-et a megfelelő hűtőadapterrel kell használni.
Amikor 96-lyukú lemezt használ, bizonyosodjon meg róla, hogy a lemez megfelelő helyzetben van, mivel a helytelen elhelyezés a minta keveredését okozhatja a downstream elemzés során.
Ha az Elution Microtubes CL lemezt használja, távolítsa el az alját a lemez csavarásával, amíg az alsó rész le nem esik.
5. Bizonyosodjon meg róla, hogy a Hulladék “Waste” fiók megfelelően elő van készítve és megfelel a Hulladék “Waste” fiók készletellenőrzésén, beleértve a pipettahegy ledobót és a folyadék hulladéktartályt. Amennyiben szükséges cserélje ki a pipettahegy hulladékzsákokat.
6. Töltse be a megfelelő reagens cartridge-okat és eszközöket a Reagensek és Eszközök “Reagents and Consumables” fiókba.
7. Végezze el a Reagensek és Eszközök “Reagents and Consumables” fiók készletellenőrzését.
8. Helyezze el a mintákat a megfelelő mintahordozóba, és töltsé be őket a Minta “Sample” fiókba.

9. Használja az érintőképernyőt, vigye be a megfelelő információkat minden egyes mintatételről és a használandó Proteináz K-ról.

Vigye be a következő információkat:

- Minta információ (a használ mintatartó rack-től függően)
- Futtatni kívánt protokoll (Assay Control Set)
- Elúciós térfogat és kimeneti pozíció

A tételekről történt információk betáplálása után, a státusz Töltött-ről **“LOADED”** Várakozóra **“QUEUED”** változik. Amint egy tétel várakozóvá változik, megjelenik a Futtatás **“Run”** gomb.

10. Helyezze el a Proteináz K-t a megfelelő mintatartóba az 1-es és a 2-es pozícióba és tölts be őket a Minta **“Sample”** fiók A slot részébe.

11. Az **“IC”** gomb megnyomásával határozza meg a Proteináz K-t.

12. Nyomja meg a Futtatás **“Run”** gombot a tisztítási eljárás megkezdéséhez.

Minden feldolgozási lépés teljesen automatizált. A protokoll futásának befejezésével a státusz megváltozik Futás alatról **“RUNNING”** Befejezettre **“COMPLETED”**.

13. Vegye ki az Eluátum **“Elute”** fiókban lévő tisztított nukleinsavat tartalmazó elúciós tárolót.

14. A DNS azonnal felhasználható vagy 2–8°C-on, -20°C-on, vagy -80°C-on tárolható.

Azt javasoljuk, hogy amint befejeződött a futás, távolítsa el az eluátum plate-et az Eluátum **“Eluate”** fiókból. A hőmérséklet és a páratartalom függvényében a futás befejeztével a QIASymphony SP-ben hagyott elúciós lemezek esetében kondenzáció vagy párolgás tapasztalható.

Általánosságban elmondható, hogy az eluátumokba nem kerül mágneses részecske. Ha mégis szennyeződés tapasztalható az eluátumban az nem fogja befolyásolni a downstream alkalmazásokat.

Amennyiben a downstream alkalmazás kivitelezése előtt mégis szükséges a mágneses részecskék eltávolítása, helyezze el az eluátumot tartalmazó csöveket vagy lemezeket

egy megfelelő mágnesre és az eluátumot pipettázza át egy tiszta csőbe (Lásd “Függelék: Cirkuláló sejtmentes DNS kvantifikálása”, 29. oldal).

Minden egyes eluátumot tartalmazó lemezeről eredményfájl készül.

15. Ha a reagens cartridge nincs rendszeresen használva zárja le a megfelelő Újrahasznosítható Kupak csíkkal “Reuse Seal Strips” a protokoll befejeztével, hogy elkerülje a párolgást.

Megjegyzés: A használt reagens cartridge-ok (RC) tárolásáról bővebb információt a “Reagens tárolás és kezelés”, 10. oldal fejezetben talál.

16. A használt mintatartó csöveket és a hulladékot a helyi biztonsági előírások szerint kezelje. A biztonsági információkat megtalálja a “Figyelmeztetések és óvintézkedések” címűfejezetben, a 8. oldalon.

17. Tisztítsa ki a QIASymphony SP-t.

Kövesse a kezelési utasításokat a készülékéhez mellékelte felhasználói kézikönyv alapján. Rendszeresen tisztítsa meg a pipettavédőket (cseppenés gátló), hogy minimalizálja a keresztszennyeződést.

18. Zárja be a készülék fiókjait és kapcsolja ki a QIASymphony SP készüléket.

Minőségellenőrzés

A QIAGEN ISO-minősített minőségellenőrzési rendszerének megfelelően a QIASymphony DSP Circulating DNA Kit minden egyes gyártási tételét leellenőrzik, hogy az megfelel-e az előírt paramétereknek, ezzel biztosítják a kit egyenletes és kifogástalan minőségét.

Korlátozások

A rendszer teljesítményét olyan teljesítményértékelési tanulmányokban határozták meg, amelyekben humán plazmából és vizeletből humán cirkuláló, sejtmentes DNS-t tisztítottak.

A felhasználó felelőssége, hogy validálja a rendszer teljesítményét a laboratóriumában alkalmazott olyan eljárásokhoz, amelyeket a QIAGEN teljesítményértékelési tanulmányai nem tartalmaznak.

A diagnosztikai eredményekre gyakorolt negatív hatás kockázatának minimálisra csökkentése érdekében a későbbi downstream alkalmazásokhoz megfelelő kontrollokat kell alkalmazni. A további validálás érdekében ajánlott az *ICH Q2 (R1) Analitikai eljárások validálása: Szöveg és Módszertan Nemzetközi Technikai Követelmény (ICH) Nemzetközi Konferenciájának* irányelveit figyelembe venni.

Minden generált diagnosztikai eredményt más klinikai vagy laboratóriumi eredményekkel együtt kell értelmezni.

Jelmagyarázat

Az alábbi táblázat szimbólumai tartalmazzák a használati útmutatóban használt szimbólumokat.



<N>

A kit tartalma <N> tesztre elegendő



Lejárat



In vitro diagnosztikai orvosi eszköz



Katalógusszám

LOT

Tételszám

MAT

Anyagszám (pl.: összetevő jelzés)

COMP

Összetevők (pl.: összetevő jelölés)

CONT

Tartalmaz (tartalom)

NUM

Szám (pl.: fiola, palack)

GTIN

Globális kereskedelmi áruazonosító szám (GTIN)

Rn

R a használati útmutató (kézikönyv) felülvizsgálatához,
és n a felülvizsgálati/verzió szám



Hőmérséklet-korlátozás



Gyártó



Olvassa el a használati utasítást



Figyelmeztetés

PROTK

Proteináz K

WELL

Lyuk/Well szám (pl.: reagens cartridge well)

REAG **CART**

Reagens cartridge

Sodium azide

Nátrium-azid

Hibaelhárítási útmutató

Ez a hibaelhárítási útmutató segíthet a felmerülő problémák megoldásában. A kapcsolat információhoz lásd a hátlapot, vagy látogasson el a **www.qiagen.com** weboldalra.

Megjegyzések és javaslatok

Általános kezelés

Hibaüzenet jelenik meg az érintőképernyőn	Ha egy protokoll alatt hibaüzenet jelenik meg, olvassa el a készülékhez mellékelt felhasználói kézikönyvet.
---	---

Csapadék a QIASymphony DSP Kit reagens tartályában, már nyitott/használt reagens tartó cartridge-ban

- | | |
|--------------------------------------|--|
| a) Puffer párolgás | A túlzott párolgás a pufferek nagyobb sókoncentrációjához vezethet. Dobja el a reagens cartridge-ot (RC). Bizonyosodjon meg arról, hogy a részben felhasznált reagens cartridge (RC) puffereit lezárja az Újrahasználható Kupakcsikkal "Reuse Seal Strips", ha épp nincs használatban a kit egy izolálási folyamatban. |
| b) A reagens cartridge (RC) tárolása | A reagens cartridge (RC) 15°C alatti tárolása csapadék képződéshez vezethet. |

Kevés DNS kinyerés

- | | |
|--|---|
| a) A mágneses részecskék nem lettek teljesen újraszuszpendálva | Az eljárás megkezdése előtt győződjön meg róla, hogy a mágneses részecskék teljesen újraszuszpendálódtak. Vortexelje használat előtt legalább 3 percig. |
|--|---|

Megjegyzések és javaslatok

- b) Pipettahegy eltömődése oldhatatlan anyag miatt
- Az oldhatatlan anyagot nem távolítottuk el a mintából a QIASyphony izolálási eljárás megkezdése előtt.
- Szükség esetén használja a megfelelő protokollban leírt előkezelési eljárásokat, amelyek a **www.qiagen.com** termékoldalon találhatóak.
- c) A mintaanyag kis koncentrációjú cirkuláló sejtmentes DNS-t tartalmaz
- Mivel a mintaanyagban nagyon kis mennyiségű keringő sejtmentes DNS található, a DNS-koncentrációt nem lehet detektálni az alkalmazott mennyiségi meghatározási módszertől függően.
- Az érzékeny qPCR használata ajánlott az eluátumok DNS koncentrációjának ellenőrzésére.
- d) A reagens cartridge helytelen lezárása
- A környező levegő cseréje a pufferek stabilitásának csökkentéséhez vezethet, ami csökkenti a ccfDNS extrakcióhatékonyosságát már használt reagens cartridge (RC) esetén. Győződjön meg róla, hogy az Újrahasznosítható Kupakcsík segítségével óvatosan lezárta a használt reagens cartridge patronjait, amennyiben azokat éppen nem használják izolálásra.

Megjegyzések és javaslatok

- e) A cirkuláló sejtmentes DNS gyors lebomlása nem stabilizált vizelet mintában
- A nem stabilizált vizeletben a mintagyűjtés után a cirkuláló sejtmentes DNS gyors degradációjának következtében lehetséges, hogy nincs DNS vagy csak alacsony DNS koncentráció detektálható az eluátumban. Ezért javasolt a vizelet mintát a megfelelő protokoll leírás alapján stabilizálni.

Alternatív megoldásként, a vizeletmintákat közvetlenül a gyűjtés és centrifugálás után ATL-előkezelésnek kell alávetni, majd azt követően rögtön DNS extrakciót kell végezni a megfelelő protokoll leírás alapján.

Nincs vagy nem teljes mintaátvitel

- a) Helytelen minta térfogat betöltése
- Amennyiben kevesebb, mint 2,4 ml vagy 4,5 ml mintatérfogat lett betöltve, megnövekedhet a minta megjelölésének kockázata vagy nem egyértelmű mintaként (unclear) vagy pedig érvénytelen (invalid) mintaként.

Töltse be a megfelelő mintamennyiséget a megfelelő laboratóriumi eszközlistában leírtak szerint. Ha nem áll rendelkezésre elegendő minta, a minta betöltése előtt adjon PBS-t a mintához a kívánt minta térfogatig.

- b) Buborékok és/vagy hab a mintacsőben
- A buborékok vagy hab a mintában és/vagy a betöltendő minta csövekben hamis folyadékszint detektálást és az azt követő nem teljes

Megjegyzések és javaslatok

mintavételezést eredményezheti. Távolítsa el a buborékokat a minta (másodlagos) csőből.

A készülék futása alatt buborékok láthatóak a pipettahegyeken

A FIX laboratóriumi eszközök használata csökkentett bemeneti minta térfogattal kombinálva

Ha kevesebb, mint 2,1 ml mintatérfogat és 4,1 ml mintatérfogat van betöltve a FIX laboratóriumi eszköz használatával, nagyobb a kockázata a kevesebb mintatérfogat átvitelének, amelyet a készülék nem észlel. Ez buborék képződéséhez vezethet a minta átvitel és/vagy az ezt követő kötési lépés során.

Töltse be a helyes mintatérfogatot a megfelelő laboratóriumi eszköz listában leírtak szerint a FIX laboratóriumi eszközök használata esetén. Ha nem áll rendelkezésre elegendő minta, a minta betöltése előtt adjunk hozzá PBS-t a mintához a kívánt minta térfogatig.

Függelék: Cirkuláló sejtmentes DNS kvantifikálása

Mivel a mintaanyagokban nagyon alacsony a cirkuláló sejtmentes DNS koncentrációja, a DNS mérése spektrofotométerrel nem ajánlott. A cirkuláló sejtmentes DNS koncentrációjának meghatározásához érzékeny és pontos fluoreszcencia alapú kvantitatív meghatározást vagy valós idejű PCR-vizsgálatot kell alkalmazni.

Ha a mágneses részecskéket el kell távolítani, a DNS-t tartalmazó csövet helyezze el a megfelelő mágneses szeparátorba (pl. QIAGEN 12-Tube Magnet, kat.szám: 36912), amíg a mágneses részecskéket el nem lehet különíteni a csövekből.

Ha a DNS mikroplate-ekben van, akkor helyezze el a mikrotiter lemezt egy megfelelő mágneses szeparátorba (pl. QIAGEN 96-Well Magnet A-Type, kat.szám: 36915), amíg a mágneses részecskék el nem különülnek. Ha nem áll rendelkezésre megfelelő mágneses szeparátor, centrifugáljuk a DNS-t tartalmazó csövet 1 percre teljes sebességgel egy mikrocentrifugában, hogy a maradék mágneses részecskéket pelletáljuk.

Rendelési információ

Termékek	Tartalom	Kat.szám
QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	Tartalmaz 2 reagens cartridge-ot és Proteináz K csövet és tartozékokat	937556
QIASymphony SP		
QIASymphony SP	QIASymphony minta előkészítő modul, 1 év garancia alkatrészekre és a javításra	9001297
Kapcsolódó termékek		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	4 x 50 ml Buffer ATL a vizeletminta előkészítéséhez	939016
Proteinase K (10 ml)	1 x 10 ml flaska	1105392
Reagent Cartridge Holder (2)	Reagens cartridge tartó a QIASymphony SP-hez	997008
Cooling Adapter, 2 ml, v2, Qsym	Hűtő adapter 2 ml-es csavarmenetes csövekhez. Használható a QIASymphony Eluátum "Eluate" fiókban	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Hűtő adapter az EMT rack-hez. A QIASymphony Eluátum "Eluate" fiókjához	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Hűtő adapter 1.5 ml Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock csövekhez. A QIASymphony Eluátum "Eluate" fiókjához	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	8 lyukú mintakezelő cartridge a QIASymphony SP-hez	997002
8-Rod Covers (144)	8-as Rúd burkolat a QIASymphony SP használatához	997004

Termékek	Tartalom	Kat.szám
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Eldobható szűrővel ellátott pipettahegyek, dobozolt; (8 x 128). A QIAcube® és a QIASymphony SP/AS használatához	990332
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	Eldobható szűrővel ellátott pipettahegyek, dobozolt; (8 x 128). A QIASymphony SP/AS használatához	997024
Tip Disposal Bags (15)	Pipettahegy ledobó zsák a QIASymphony SP-hez	9013395
12-Tube Magnet	Mágneses részecske szeparáláshoz 12 x 1.5 ml vagy 2 ml csövekből	36912
96-Well Magnet Type A	Mágneses részecskék well-ekből történő szeparálásához, 96-well plate, 2 x 96-Well Microplates FB	36915
Reuse Seal Set (20)	Újrahasználható tömítő készlet a ritkán használt QIASymphony reagens cartridge-ok tömítésére	997006
Elution Microtubes CL (24 x 96)	Nem steril polipropilén csövek (0,85 ml maximális kapacitás, kevesebb, mint 0,7 ml tárolókapacitás, 0,4 ml elúciós kapacitás); 2304 db 96-os rekeszekben; magában foglalja a kupakokat	19588

A naprakész licenz információkért és a termék specifikus nyilatkozatokért tanulmányozza át a megfelelő QIAGEN kit kézikönyvet vagy felhasználói útmutatóit. A QIAGEN kitek kézikönyvei és használati útmutatói a www.qiagen.com oldalon megtalálhatóak vagy a QIAGEN Technikai szolgálatától vagy a helyi forgalmazótól kérhetők.

Ennek a terméknek a megvásárlása feljogosítja a vevőt, a kit humán in vitro diagnosztikai szolgáltatás teljesítményszinten való használatára. A vásárlással megszerzett használati jogon kívül semmilyen általános szabadalmi vagy bármilyen más licenz engedélyre nem jogosít ez a megállapodás.

Védjegyek: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, QIAcube® (QIAGEN Group); Eppendorf® (Eppendorf AG).

Az ebben a dokumentumban használt védett nevek, kereskedelmi védjegyek stb., még ha nincsenek is különösen jelölve, mint védett nevek, nem tekinthetők a törvény által nem védettnek.

Korlátozott Licenz megállapodás a QIASymphony DSP Circulating DNA Kit-re

Ennek a terméknek a használatával bármely a kit-et beszerző vagy használó kinyilvánítja beleegyezését a következő feltételekbe:

1. A termék a hozzá adott termék kézikönyvében szereplő protokollokkal összhangban és csak a készletben található elemekkel együtt használható. A QIAGEN valamennyi szellemi tulajdonjoga alapján nem járul hozzá, hogy felhasználják és beleépítsék a készletben lévő elemeket a készletben nem megtalálható elemekkel, kivéve abban az esetben, ha az szerepel a termékhez biztosított kézikönyvben, valamint további a www.qiagen.com oldalon elérhető protokollokban. Néhány ezek közül a további protokollok közül QIAGEN felhasználók által, QIAGEN felhasználók részére bocsátott protokollok. Ezek a protokollok nem estek át a QIAGEN alapos tesztein és azokat nem optimalizálták. A QIAGEN nem garantálja és biztosítja, hogy ezek nem sértik harmadik fél jogait.
2. A kifejezett licenzeken kívül a QIAGEN nem vállal garanciát arra, hogy ez a készlet és/vagy ennek használata harmadik fél jogait nem sérti
3. A kit és összetevőinek license csak egyszeri használatra érvényes, nem szabad azt újra felhasználni, felújítani vagy újra értékesíteni.
4. A QIAGEN egyértelműen elutasít minden más (kifejezett vagy hallgatólagosan beleértett) licenst, amelyet külön nem nyilvánított ki.
5. A kit vevője és felhasználója elfogadja, hogy sem ő maga nem teszi és senki másnak sem engedélyez semmilyen lépést, amely a fenti pontokban tiltott cselekményre vezet vagy elősegíti azt. A korlátozott licenz egyezménybe foglalt korlátozásokat a QIAGEN bármely bíróságon keresztül érvényesítheti, továbbá a licenz megszegőjét a nyomozati és bírósági eljárás teljes költségének megtérítésére kötelezheti, beleértve az ügyvédi díjakat is abban az eljárásban, amelynek célja a korlátozott licenz, valamint a kit-hez és összetevőikhez kapcsolódó szellemi tulajdonjog betartatása.

A legfrissebb licenz feltételekért látogassa meg a www.qiagen.com honlapot.

HB-2309-002 1103177 157018501 03/2017

© 2017 QIAGEN, minden jog fenntartva.

