

2017. december

QIAsymphony[®] SP protokoll lap

DNA_Buffy_Coat_200_V7 DSP protokoll

Jelen dokumentum a QIAsymphony DSP DNA Mini Kit 1. verziójához készült DNA_Buffy_Coat_200_V7 QIAsymphony SP protokoll lap, 2. átdolgozás.

Általános információk

A QIASymphony DSP DNA kit in vitro diagnosztikai használatra szolgál.

Ez a protokoll a friss vagy fagyasztott buffy coatból származó összes genomiális és mitokondriális DNS megtisztítására szolgál QIASymphony SP készülék és QIASymphony DSP DNA Mini Kit alkalmazásával.

Kit	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (katalógusszám: 937236)
Mintaanyag	Buffy coat (EDTA-val, citráttal vagy heparinnal alvadásgátolt)
Protokoll neve	DNA_BC_200_V7_DSP
Alapértelmezett tesztkontrollkészlet	ACS_BC_200_V7_DSP
Szerkeszthető	Elúciós térfogat: 200 µl, 300 µl, 400 µl
Szükséges szoftververzió	4.0-s vagy későbbi verzió

„Sample” (Minta) fiók

Mintatípus	Buffy coat (EDTA-val, citráttal vagy heparinnal alvadásgátolt)
Mintatérfogat	Az alkalmazott mintacső típusától függ; további tájékoztatásért lásd www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Elsődleges mintacsövek	n.a.
Másodlagos mintacsövek	További tájékoztatásért lásd www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Inzertek	Az alkalmazott mintacső típusától függ; további tájékoztatásért lásd www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

n.a. = nem alkalmazható.

„Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiók

A1 és/vagy A2 pozíció	Reagenskazetta
B1 pozíció	n.a.
Hegyalvány-tartó, 1–17.	Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 200 µl vagy 1500 µl
1–4. számú egységdoboz-tartó	Minta-előkészítő kazettákat vagy 8-as rúdburkolatokat 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)	További tájékoztatásért lásd www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.
--	---

Szükséges műanyag eszközök

	Egy köteg, 24 minta*	Két köteg, 48 minta*	Három köteg, 72 minta*	Négy köteg, 96 minta*
Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 200 µl ^{†‡}	2	2	2	2
Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 1500 µl ^{†‡}	110	212	314	416
Minta-előkészítő kazetták [§]	18	36	54	72
8-as rúdburkolatok [¶]	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 leltárelőrzéshez szükséges szűrővel ellátott hegyeket is beleszámítva.

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

[¶] Egy egységdoboz tizenkét 8-as rúdburkolatot 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 tesztbeállítási 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 információkat a megfelelő biztonsági adatlapok (safety data sheet, SDS) tartalmazznak, amelyek az adott termék gyártójától szerezhetők be.

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 RNáz A-t a mintához. A végső RNáz A koncentrációnak 2 mg/ml-nek kell lennie.

Buffy coat

A buffy coat a teljes vér fehérvérsejtekben gazdag frakciója. A fehérvérsejt-dúsítás hatékonysága a buffy coat készítésére alkalmazott eljárástól, valamint a buffy coat réteg kinyerésének pontosságától függ. A buffy coat elkészítéséhez centrifugálja a standard antikoaguláns (EDTA, citrát vagy heparin) tartalmazó teljesvér-mintát 900–1100 x g-vel 10 percig szobahőmérsékleten (15–25 °C). A centrifugálás után 3 különböző frakciót lehet megkülönböztetni: a felső áttetsző réteg a plazma; a középső réteg a fehérvérsejteket koncentráltan tartalmazó buffy coat; az alsó réteg pedig koncentrált vörösvérsejteket tartalmaz. 10 ml centrifugált teljes vérből hozzávetőleg 1 ml fehérvérsejtben gazdag frakciót lehet kinyerni, amely átlagosan 5–6-szoros dúsításnak felel meg. Például 10 ml 6×10^6 sejt/ml fehérvérsejtszámú teljes vérből 1 ml buffy coat nyerhető ki. A fehérvérsejtek 5-szörös dúsításával számolva ez 3×10^7 sejt/ml-t ad. Következésképp egy 200 µl buffy coatot alkalmazó protokollban 6×10^6 sejt kerül felhasználásra.

A DNS-tisztítási eljárás túlterhelésének elkerülése érdekében ne készítsen >10x dúsítású buffy coat mintákat. Ha a buffy coat minták dúsítása >10x, hígítsa a mintákat PBS-sel 10x vagy annál kisebb dúsításig, vagy használjon kevesebb kiindulási anyagot a DNS-tisztítási eljárás során.

A buffy coat minták felhasználhatók azonnal, vagy későbbi időpontban végzett DNS-tisztításhoz -20 °C-on vagy -70 °C-on tárolhatók. A fagyasztott mintákat az eljárás megkezdése előtt 37 °C-os vízfürdőben gyorsan ki kell olvasztani, eközben az alapos elkeveredés érdekében enyhe mozzgatás szükséges, majd a mintákat szobahőmérsékletre kell hozni (15–25 °C). A megbízható mintaátvitel érdekében kerülje a hab kialakulását a mintacsövekben. Próbálja meg elkerülni a vérrögök kialakulását a mintákban, illetve ha szükséges, mérje át a mintát egy friss csöbe a vérrögök nélkül.

Átdolgozási előzmények

Dokumentum átdolgozási előzményei	
R2 12/2017	Frissítés a QIASymphony 5.0-s szoftververzióknak megfelelően

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 útmutatói a **www.qiagen.com** webhelyen érhetők el, vagy 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 törvényi védelmen kívül esőnek, ha nem rendelkeznek külön jelöléssel.
12/2017 HB-0977-S05-002 © 2017 QIAGEN, minden jog fenntartva.

Rendelés: www.qiagen.com/shop | Műszaki támogatás: support.qiagen.com | Webhely: www.qiagen.com