
Grudzień 2017

Karta protokołu QIAasymphony[®] SP

Protokół DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP

Niniejszy dokument to *karta protokołu QIAasymphony SP DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP R3* dla zestawu QIAasymphony DSP DNA Mini Kit, wersja 1.

Informacje ogólne

Zestaw QIASymphony DSP DNA Kit jest przeznaczony do diagnostyki in vitro.

Niniejszy protokół służy do oczyszczania całkowitego genomowego i mitochondrialnego DNA ze świeżego lub zamrożonego kożuszka leukocytno-platek za pomocą aparatu QIASymphony SP i zestawu QIASymphony DSP DNA Midi Kit.

Zestaw	Zestaw QIASymphony DSP DNA Midi Kit (nr kat. 937255)
Materiał próbek	Kożuszek leukocytno-platekowy (antykoagulowany EDTA, cytrynianem lub heparyną)
Nazwa protokołu	DNA_BC_400_V6_DSP
Domyślny zestaw ustawień kontrolnych badania	ACS_BC_400_V6_DSP
Możliwość dostosowania	Objętość elucji: 200 µl, 400 µl
Wymagana wersja oprogramowania	Wersja 4.0 lub wyższa

Szuflada „Sample” (Próbka)

Typ próbki	Kożuszek leukocytno-platekowy (antykoagulowany EDTA, cytrynianem lub heparyną)
Objętość próbki	Zależy od typu używanej próbki; więcej informacji znajduje się na stronie www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Próbki pierwotne	nd.
Próbki dodatkowe	Więcej informacji znajduje się na stronie www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Wkłady	Zależy od typu używanej próbki; więcej informacji znajduje się na stronie www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

nd. = nie dotyczy.

Szuflada „Reagents and Consumables” (Odczynniki i materiały eksploatacyjne)

Pozycja A1 i/lub A2	Kartridż z odczynnikiem
Pozycja B1	nd.
Uchwyt na statyw na końcówki 1–17	Jednorazowe końcówki z filtrem, 200 µl lub 1500 µl
Uchwyt na opakowania jednostkowe 1–4	Opakowania jednostkowe zawierające kartridże sample prep lub zamknięcia 8-szytówkowe

nd. = nie dotyczy.

Szuflada „Waste” (Odpady)

Uchwyt na opakowania jednostkowe 1–4	Puste opakowania jednostkowe
Uchwyt na worek na odpady	Worek na odpady
Uchwyt na butlę na odpady płynne	Pusta butla na odpady płynne

Szuflada „Eluate” (Eluat)

Statyw elucji (zalecamy używanie gniazda 1, pozycji chłodzenia)	Więcej informacji znajduje się na stronie www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
---	--

Wymagany sprzęt z tworzywa sztucznego

	Jedna partia, 24 próbki*	Dwie partie, 48 próbek*	Trzy partie, 72 próbki*	Cztery partie, 96 próbek*
Jednorazowe końcówki z filtrem, 200 µl ^{†‡}	4	4	4	8
Jednorazowe końcówki z filtrem, 1500 µl ^{†‡}	110	212	314	424
Kartridże sample prep [§]	18	36	54	72
Zamknięcia 8-szyftowe [¶]	3	6	9	12

* W przypadku używania mniej niż 24 próbek na jedną partię zmniejsza się liczba jednorazowych końcówek z filtrem wymaganych na cykl.

[†] Statyw na końcówki zawiera 32 końcówki z filtrem.

[‡] Liczba wymaganych końcówek z filtrem obejmuje końcówki z filtrem dla 1 skanowania inwentaryzującego na kartridż z odczytnikami.

[§] Opakowanie jednostkowe zawiera 28 kartridży sample prep.

[¶] Opakowanie jednostkowe zawiera dwanaście zamknięć 8-szyftowych.

Uwaga: Podane liczby końcówek z filtrem mogą różnić się od liczb wyświetlanych na ekranie dotykowym w zależności od ustawień. Zalecamy załadowanie maksymalnej możliwej liczby końcówek.

Objętość elucji

Objętość elucji jest wybierana na ekranie dotykowym. W zależności od typu próbki i zawartości DNA końcowa objętość eluatu może być mniejsza o maksymalnie 15 µl od wybranej objętości. Ze względu na możliwość występowania różnic w objętości eluatu podczas korzystania z systemu zautomatyzowanej konfiguracji badania, który nie weryfikuje objętości eluatu przed jego przeniesieniem, zalecamy sprawdzenie rzeczywistej objętości eluatu. Elucja w mniejszych objętościach zwiększa końcowe stężenie DNA, ale nieznacznie zmniejsza uzysk. Zalecamy stosowanie objętości elucji odpowiedniej do zaplanowanych dalszych procedur analitycznych.

Przygotowanie materiału próbki

W czasie pracy ze środkami chemicznymi należy zawsze używać odpowiedniego fartucha laboratoryjnego, rękawiczek jednorazowych i okularów ochronnych. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z kartami charakterystyki (Safety Data Sheet, SDS) uzyskanymi od producentów poszczególnych produktów.

Ważna informacja przed rozpoczęciem

- Cząsteczki magnetyczne QIASymphony mogą spowodować jednoczesne oczyszczenie RNA, jeśli jest on obecny w próbce. W celu zminimalizowania zawartości RNA w próbce przed rozpoczęciem procedury należy dodać do próbki RNazę A. Końcowe stężenie RNazy A powinno wynosić 2 mg/ml.

Kożuszek leukocytno-płytkowy

Kożuszek leukocytno-płytkowy to frakcja krwi pełnej wzbogacona leukocytami. Wydajność wzbogacenia leukocytami zależy od procedury wykorzystywanej do przygotowania kożuszka leukocytno-płytkowego oraz od dokładności podczas pobierania warstwy kożuszka leukocytno-płytkowego. Przygotować kożuszek leukocytno-płytkowy, wirując próbki krwi pełnej zawierające standardowy antykoagulant (EDTA, cytrynian lub heparynę) przy 900–1100 x g przez 10 minut w temperaturze pokojowej (15–25°C). Po odwirowaniu można rozróżnić 3 różne frakcje: górna, przejrzysta warstwa to osocze; środkowa warstwa to kożuszek leukocytno-płytkowy — koncentrat leukocytów; a dolna warstwa to koncentrat krwinek czerwonych. Z 10 ml odwirowanej krwi pełnej powinno być możliwe pobranie około 1 ml frakcji zawierającej leukocyty, co skutkuje wzbogaceniem o średnio 5–6 razy. Przykład: z 10 ml krwi pełnej o liczbie krwinek białych równej 6×10^6 komórek/ml otrzymano 1 ml kożuszka leukocytno-płytkowego. Zakładając 5-krotne wzbogacenie o krwinki białe, otrzymano stężenie 3×10^7 komórek/ml. Z tego względu w protokole, w którym stosowane jest 400 µl kożuszka leukocytno-płytkowego, zostanie zużytych $1,2 \times 10^7$ komórek.

Aby uniknąć przeładowania procedury oczyszczania DNA, nie należy przygotowywać próbek kożuszka leukocytno-płytkowego z >10-krotnym wzbogaceniem. Jeśli próbki kożuszka leukocytno-płytkowego są wzbogacone >10-krotnie, należy rozcieńczyć je do wzbogacenia 10-krotnego lub mniejszego, używając buforu PBS, lub użyć mniejszej ilości materiału początkowego do procedury oczyszczania DNA.

Próbki kożuszka leukocytno-płytkowego można niezwłocznie zużyć lub przechowywać w temperaturze –20°C lub –70°C w celu późniejszego oczyszczenia DNA. Zamrożone próbki należy szybko rozmrozić w łaźni wodnej w temperaturze 37°C z delikatnym wstrząsaniem, aby zapewnić ich dokładne wymieszanie, a następnie przed rozpoczęciem procedury doprowadzić do temperatury pokojowej (15–25°C). Aby zapewnić niezawodne przeniesienie próbki, nie dopuszczać do wytworzenia się piany w probówkach. Starać się nie dopuścić do wytworzenia skrzepów krwi w próbkach i, w razie potrzeby, przenieść próbkę bez skrzepów do świeżej probówki.

Historia zmian

Historia zmian dokumentu	
R3 12/2017	Aktualizacja dla wersji 5.0 oprogramowania QIASymphony

Aktualne informacje licencyjne oraz wyłączenia odpowiedzialności dla poszczególnych produktów znajdują się w odpowiedniej instrukcji obsługi lub podręczniku użytkownika zestawu QIAGEN®. Instrukcje obsługi lub podręczniki użytkownika zestawu QIAGEN są dostępne w witrynie www.qiagen.com. Można je także zamówić w serwisie technicznym lub u lokalnego dystrybutora firmy QIAGEN.

Znaki towarowe: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Zastrzeżonych nazw, znaków towarowych itd. wykorzystywanych w niniejszym dokumencie, nawet jeżeli nie zostały oznaczone jako zastrzeżone, nie można uważać za niechronione przepisami prawa.
12/2017 HB-0977-S06-003 © 2017 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.

Składanie zamówień www.qiagen.com/shop | Pomoc techniczna support.qiagen.com | Strona WWW www.qiagen.com