

Gruodis 2017

„QIASymphony[®] SP“ protokolo lapas

„Complex200_OBL_V4_DSP“ protokolas

Šis dokumentas yra „Complex200_OBL_V4_DSP“ „QIASymphony SP“ protokolo lapas, R2, skirtas „QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit“, 1 versija.

Bendroji informacija

Rinkinys „QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit“ skirtas naudoti tik *in vitro* diagnostikai.

Rinkinys	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit
Mėginio medžiaga	Kvėpavimo trakto ir urogenitaliniai mėginiai
Protokolo pavadinimas	Complex200_OBL_V4_DSP
Numatytasis tyrimo kontrolės rinkinys	ACS_Complex200_OBL_V4_DSP
Redaguojama	Eliuato tūris: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Reikalinga programinės įrangos versija	4.0 arba naujesnė versija

„Sample“ (mėginių) stalčius

Mėginio tipas	Kvėpavimo trakto mėginiai (BAL, išdžiovinti tamponai, transportavimo terpė, aspiratai, skrepliai) ir urogenitaliniai mėginiai (šlapimas, transportavimo terpė)
Mėginio tūris	Priklauso nuo naudojamo mėginio mėgintuvėlio tipo; daugiau informacijos žr. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Pirminiai mėginių mėgintuvėliai	Daugiau informacijos žr. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Antriniai mėginių mėgintuvėliai	Daugiau informacijos žr. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Įdėklai	Priklauso nuo naudojamo mėginio mėgintuvėlio tipo; daugiau informacijos žr. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Kita	Reikalingas nešančiosios RNR, „Buffer AVE“ mišinys; vidinė kontrolinė medžiaga naudojama pasirinktinai

„Reagents and Consumables“ (reagentų ir eksploatacinių reikmenų) stalčius

A1 ir (arba) A2 vieta	Reagentų kasetė (Reagent cartridge, RC)
B1 vieta	nėra
Antgalių stovėlio laikiklis, 1–17	Disposable filter-tips, 200 µl
Antgalių stovėlio laikiklis, 1–17	Disposable filter-tips, 1500 µl
Elementų dėžutės laikiklis, 1–4	Elementų dėžutės su mėginių paruošimo kasetėmis
Elementų dėžutės laikiklis, 1–4	Elementų dėžutės su „8-Rod Covers“

nėra = netaikoma.

„Waste“ (atliekų) stalčius

Elementų dėžutės laikiklis, 1–4	Tuščios elementų dėžutės
Atliekų maišelio laikiklis	Atliekų maišelis
Skystųjų atliekų butelio laikiklis	Skystųjų atliekų butelis

„Eluate“ (eliuato) stalčius

Eliavimo stovėlis
(rekomenduojame naudoti 1 lizdą, aušinimo padėtis)

Daugiau informacijos žr.
www.qiagen.com/goto/dsphandbooks

Reikalingos plastikinės priemonės

	Viena partija, 24 mėginiai*	Dvi partijos, 48 mėginiai*	Trys partijos, 72 mėginiai*	Ketrios partijos, 96 mėginiai*
Disposable filter-tips, 200 µl ^{††}	96	96	128	128
Disposable filter-tips, 1500 µl ^{††}	128	192	224	288
Sample prep cartridges [§]	18	36	54	72
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Jei atliekamas daugiau nei vienas atsargų žvalgymas, reikia papildomų vienkartinį filtrų antgalių. Jei partijoje naudojami mažiau nei 24 mėginiai, sumažėja tyrimui reikalingų vienkartinį filtrų antgalių skaičius.

[†] Antgalių stovelyje yra 32 filtrų antgaliai.

[‡] Į reikalingų filtrų antgalių skaičių įskaičiuoti filtrų antgaliai, reikalingi vienai reagentų kasetei atliekant 1 reikmenų nuskaitymą.

[§] Elementų dėžutėje yra 28 mėginių paruošimo kasetės.

[¶] Elementų dėžutėje yra dvylika „8-Rod Covers“.

Pastaba. Pateiktas filtrų antgalių skaičius gali skirtis nuo jutikliniame ekrane rodomų skaičių; tai priklauso nuo parametrų, pavyzdžiui, partijoje naudojamų vidinių kontrolinių medžiagų.

Pasirinktas eliuavimo tūris

Pasirinktas eliuavimo tūris (µl)*	Pradinis eliuavimo tūris (µl) [†]
60	90
85	115
110	140

* Jutikliniame ekrane pasirinktas eliuavimo tūris. Tai yra mažiausias pasiekiamas eliuato tūris paskutiniame eliuavimo mėgintuvėlyje.

[†] Pradinis eliuavimo tirpalo tūris yra reikalingas tam, kad faktinis eliuato tūris sutaptu su pasirinktu tūriu.

Vidinės kontrolinės medžiagos, nešančiosios RNR (CARRIER) ir „Buffer AVE“ (AVE) mišinio ruošimas

Pasirinktas eliuavimo tūris (μl)	Pradinis nešančiosios RNR tūris (CARRIER) (μl)	Vidinės kontrolinės medžiagos tūris (μl)*	„Buffer AVE“ tūris (AVE) (μl)	Galutinis vieno mėginio tūris (μl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* Vidinės kontrolinės medžiagos kiekio skaičiavimas pagrįstas pradinio eliuavimo tūriu. Papildomas neveikos tūris priklauso nuo naudojamo mėginio mėgintuvėlio tūrio; daugiau informacijos žr. www.qiagen.com/goto/dsphanbooks.

Pastaba. Lentelėje pateiktos vidinės kontrolinės medžiagos, nešančiosios RNR (CARRIER) mišinio, skirtos paskesniajam tyrimui, kuriam reikia 0,1 μl vidinės kontrolinės medžiagos/μl eliuato, paruošimo reikšmės.

Lizė ne prietaise

Dirbdami su cheminėmis medžiagomis būtina dėvėti tinkamą laboratorinį chalata, mūvėkite vienkartinę pirštines ir užsidėkite apsauginius akinius. Daugiau informacijos yra atitinkamuose medžiagos saugos duomenų lapuose (material safety data sheets, MSDS), kuriuos gali pateikti produkto tiekėjas.

„QIASymphony“ „Complex“ protokolus sudaro 4 etapai: lizavimo, rišimo, plovimo ir eliuavimo. Kai kuriuos mėginius naudinga lizuoti rankiniu būdu, pavyzdžiui, inaktyvuojant patogenus biologinės saugos spintoje. Naudojant „Complex200_OBL_V4_DSP“ protokolą, galima lizuoti rankiniu būdu panašiai kaip ir naudojant „Complex200_V6_DSP“ protokolą. Iš anksto apdoroti mėginiai perkeliama į „QIASymphony SP“ ir apdorojami taikant „Complex200_OBL_V4_DSP“.

Pastaba. Naudojant „Complex200_OBL_V4“ protokolą, reikalingas „Buffer ACL“ ir „Buffer ATL“ (ATL). „Buffer ACL“ (kat. nr. 939017) ir „Buffer ATL“ (ATL) (kat. nr. 939016) nėra rinkinio „QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit“ dalis ir juos reikia užsisakyti atskirai.

Rankinė lizė

1. Pipete perkelkite 20 µl proteinazės K, 100 µl „Buffer ATL“ (ATL), 120 µl nešančiosios RNR vidinės kontrolinės medžiagos mišinio ir 190 µl „Buffer ACL“ į 2 ml „Sarstedt“ mėgintuvėlį (kat. nr. 72.693 arba 72.694).

Pastaba. Jei rankinės lizės būdu apdorojamas daugiau nei vienas mėginys, galima paruošti pradinį tirpalą. Tiesiog padauginkite vienam mėginiui reikalingus tūrius iš bendro apdorojamų mėginių skaičiaus ir pridėkite papildomą tūrį, lygų 2 papildomų mėginių tūriui. Apverskite mėgintuvėlį kelis kartus, kad sumaišytumėte, perkelkite po 430 µl į 2 ml „Sarstedt“ mėgintuvėlį kiekvienam mėginiui, tuomet su kiekvienu mėginiu atlikite 4 veiksmą.

2. Uždenkite dangtelį ir sumaišykite apversdami mėgintuvėlį 5 kartus.
3. Trumpai centrifuguokite mėgintuvėlį, kad pašalintumėte lašelius nuo dangtelio vidinės pusės.
4. Įpilkite į mėgintuvėlį 200 µl mėginio, uždenkite dangtelį ir maišykite impulsine sūkurine maišykle 10 sekundžių.
5. Inkubuokite mėgintuvėlius 68 °C temperatūroje 15 minučių (± 1 min.).
6. Trumpai centrifuguokite mėgintuvėlį, kad pašalintumėte lašelius nuo dangtelio vidinės pusės.
7. Įdėkite atitinkamų mėgintuvėlių įdėklus į mėgintuvėlių laikiklį ir įstatykite mėgintuvėlius su mėginiais (be dangtelių).

Mėginio medžiagos paruošimas

Šlapimas

Šlapimą galima apdoroti be papildomo pirminio apdorojimo. Sistema yra optimizuota gryniems šlapimo mėginiams, kuriuose nėra konservantų. Norint padidinti jautrumą bakteriniams patogenams, mėginius galima centrifuguoti. Pašalinus supernatantą, granulę galima resuspenduoti mažiausiai 200 µl „Buffer ATL“ (ATL) (kat. nr. 939016). Naudokite 200 µl iš anksto apdorotos medžiagos kaip mėginį ruošiantis lizei ne prietaise.

Genominės DNR išskyrimas iš gramteigiamų bakterijų

Kai kurių gramteigiamų bakterijų DNR išgryninimą galima pagerinti atlikus pirminį fermentinį apdorojimą prieš perkeliant mėginį į „QIASymphony SP“ ir pradedant „Complex200_OBL_V4_DSP“ protokolą.

1. Granuliuokite bakterijas centrifuguodami 5000 x g 10 minučių.
2. Suspenduokite bakterijų granulę 200 µl atitinkamo fermento tirpalo (20 mg/ml lizocimo arba 200 µg/ml lizostafino 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2 % „Triton X-100“).

3. Inkubuokite 37 °C temperatūroje bent 30 minučių (± 2 min.).
4. Trumpai centrifuguokite mėgintuvėlį, kad pašalintumėte lašelius nuo dangtelio vidinės pusės.
5. Naudokite 200 µl iš anksto apdorotos medžiagos kaip mėginį ruošiantis lizei ne prietaise.

Klampūs arba gleivėti mėginiai

Kai kurie mėginiai (pvz., skrepliai, kvėpavimo trakto aspiratai) gali būti klampūs ir, norint pipetuoti, juos reikia suskystinti. Mažo klampumo mėginių papildomai paruošti nereikia. Vidutinio ir didelio klampumo mėginius reikia paruošti taip:

1. praskieskite mėginį santykiu 1:1 „Sputasol“^{**†} („Oxoid“, kat. nr. SR0233) arba 0,3 % (w/v) DTT.

Pastaba. 0,3 % DTT tirpalą galima pasiruošti iš anksto ir laikyti –20 °C atitinkamomis alikvotinėmis dalimis. Atitirpintas alikvotines dalis panaudojus reikia išmesti.

2. Inkubuokite 37 °C temperatūroje, kol mėginio klampumas bus tinkamas pipetuoti.
3. Naudokite 200 µl iš anksto apdorotos medžiagos kaip mėginį ruošiantis lizei ne prietaise.

Išdžiovintų kūno skysčių ir sekreto tamponai

1. Pamerkite išdžiovinto tampono galą į 450 µl „Buffer ATL“ (ATL) (kat. nr. 939016) ir inkubuokite 56 °C temperatūroje 15 minučių (± 1 min.) nuolat maišydami. Jei maišyti neįmanoma, prieš inkubavimą ir po inkubavimo purtykite bent 10 sekundžių.
2. Ištraukite tamponą ir, prispausdami prie vidinės mėgintuvėlio sienelės pusės, išspauskite iš jo visą skystį.
3. Naudokite 200 µl iš anksto apdorotos medžiagos kaip mėginį ruošiantis lizei ne prietaise.

Pastaba. Šis protokolas optimizuotas medvilniniams arba polietileniniams tamponams. Naudojant kitokius tamponus, norint gauti bent 200 µl mėginio medžiagos, gali tekti koreguoti „Buffer ATL“ (ATL) tūrį.

Kvėpavimo trakto arba urogenitaliniai tamponai

Kvėpavimo trakto arba urogenitalinių tamponų laikymo terpę galima naudoti be pirminio apdorojimo. Jeigu tamponai nebuvo išimti, prispauskite tamponą prie mėgintuvėlio sienelės, kad išspausstumėte skystį. Dabar, surenkant ant tampono, iš mėginio reikia pašalinti perteklines gleives.

* „Sputasol“ („Oxoid“, kat. nr. SR0233, www.oxoid.com) arba ditiotreitolis (DTT).

† Sąraše nurodyti ne visi tiekėjai.

Tuomet, prispaudžiant tamponą prie mėgintuvėlio sienelės, iš gleivių ir tampono reikia išspausti likusį skystį. Galiausiai, tamponą ir gleives reikia išimti ir išmesti. Jeigu mėginiai yra klampūs, prieš perkeldami mėginį į „QIASymphony SP“, suskystinkite juos (žr. anksčiau „Klampūs arba gleivėti mėginiai“). Jeigu nepakanka pradinės medžiagos, pipete perkeltkite „Buffer ATL“ (ATL) į transportavimo terpę, kad gautumėte minimalų reikalingą pradinį tūrį, ir purtykite mėginį mėgintuvėlyje 15–30 sekundžių (jeigu transportavimo terpėje yra tamponas, šį veiksmą atlikite prieš išimdami tamponą). Naudokite 200 µl medžiagos kaip mėginį ruošiantis lizei ne prietaise.

Peržiūros istorija

Dokumento peržiūros istorija	
R2 12/2017	„QIASymphony“ programinės įrangos 5.0 versijos naujinimas

Norėdami gauti naujausios informacijos apie licencijavimą ir atsakomybės už produktus apribojimus, žr. atitinkamą QIAGEN® rinkinio vadovą arba naudotojo vadovą. QIAGEN rinkinių vadovai arba naudotojo vadovai pateikti svetainėje www.qiagen.com arba galite jų paprašyti QIAGEN techninių tarnybų ar vietinio platintojo.

Prekių ženklai: QIAGEN®, „Sample to Insight™“, „QIASymphony™“ (QIAGEN grupė). Šiame dokumente vartojami registruotieji pavadinimai, prekių ženklai ir kt., net jei jie specialiai nepažymėti, vis tiek yra saugomi įstatymų. 12/2017 HB-0301-S27-002_LT © QIAGEN, 2017. Visos teisės saugomos.

Užsakymas www.qiagen.com/shop | Techninė pagalba support.qiagen.com | Svetainė www.qiagen.com