Δεκέμβριος 2017

Φύλλο πρωτοκόλλου QIAsymphony® SP

Πρωτόκολλο DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP

Το παρόν έγγραφο είναι το *Φύλλο πρωτοκόλλου* του DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP *QIAsymphony SP*, R3, για το κιτ QIAsymphony DSP DNA Mini, έκδοση 1.

Sample to Insight

QIAGEN

Γενικές πληροφορίες

Το κιτ QIAsymphony DSP DNA προορίζεται για in vitro διαγνωστική χρήση.

Αυτό το πρωτόκολλο αφορά τον καθαρισμό του ολικού γονιδιωματικού και μιτοχονδριακού DNA από φρέσκο ή κατεψυγμένο λευκοκρίτη με χρήση του QIAsymphony SP και του QIAsymphony DSP DNA Midi Kit.

Κιτ	QIAsymphony DSP DNA Midi Kit (αρ. καταλ. 937255)
Υλικό δείγματος	Λευκοκρίτης (με προσθήκη αντιπηκτικού EDTA, κιτρικών ή ηπαρίνης)
Ονομασία πρωτοκόλλου	DNA_BC_400_V6_DSP
Προκαθορισμένο σετ μαρτύρων προσδιορισμού	ACS_BC_400_V6_DSP
Διαμορφώσιμο	Όγκος έκλουσης: 200 µl, 400 µl
Απαιτούμενη έκδοση λογισμικού	Έκδοση 4.0 ή μεταγενέστερη

Συρτάρι «Sample» (Δείγμα)

Τύπος δείγματος	**Λευκοκρίτης (με προσθήκη αντιπηκτικού EDTA, κιτρικών ή ηπαρίνης)**
Όγκος δείγματος	Εξαρτάται από τον τύπο σωληναρίου δείγματος που χρησιμοποιείται. Για περισσότερες πληροφορίες, βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.
Πρώτα σωληνάρια δείγματος	δεν εφαρμ.
Δεύτερα σωληνάρια δείγματος	Για περισσότερες πληροφορίες βλ.www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.
Ένθετα	Εξαρτάται από τον τύπο σωληναρίου δείγματος που χρησιμοποιείται. Για περισσότερες πληροφορίες, βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

δεν εφαρμ. = δεν εφαρμόζεται.

Συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα)

Θέση A1 ή/και A2	**Φύσιγγα αντιδραστηρίων**
Θέση B1	δεν εφαρμ.
Στήριγμα θήκης ρυγχών 1–17	Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 µl ή 1500 µl
Στήριγμα κουτιού μονάδων 1–4	Κουτιά μονάδων που περιέχουν φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων ή περιβλήματα 8 ράβδων

δεν εφαρμ. = δεν εφαρμόζεται.

Συρτάρι «Waste» (Απόβλητα)

Στήριγμα κουτιού μονάδων 1–4	**Κενά κουτιά μονάδων**
Στήριγμα σακούλας αποβλήτων	Σακούλα αποβλήτων
Στήριγμα φιάλης υγρών αποβλήτων	Κενή φιάλη υγρών αποβλήτων

Συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα)

Θήκη έκλουσης (συνιστούμε τη χρήση της υποδοχής 1, θέση ψύξης)	**Για περισσότερες πληροφορίες βλ.www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.**

Απαιτούμενα πλαστικά υλικά

	Μία παρτίδα, 24 δείγματα*	Δύο παρτίδες, 48 δείγματα*	Τρεις παρτίδες, 72 δείγματα*	Τέσσερις παρτίδες, 96 δείγματα*
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 μl[†‡]	4	4	4	8
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 1500 μl[†‡]	110	212	314	424
Φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων[§]	18	36	54	72
Περιβλήματα 8 ράβδων[¶]	3	6	9	12

* Η χρήση λιγότερων από 24 δειγμάτων ανά παρτίδα μειώνει τον αριθμό των αναλώσιμων ρυγχών φίλτρου που απαιτούνται ανά εκτέλεση.

† Κάθε θήκη ρυγχών περιέχει 32 ρύγχη φίλτρου.

‡ Ο αριθμός των απαιτούμενων ρυγχών φίλτρου περιλαμβάνει ρύγχη φίλτρου για 1 σάρωση υλικού ανά φύσιγγα αντιδραστηρίων.

§ Κάθε κουτί μονάδων περιέχει 28 φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων.

¶ Κάθε κουτί μονάδων περιέχει δώδεκα περιβλήματα 8 ράβδων.

Σημείωση: Ανάλογα με τις εκάστοτε ρυθμίσεις, οι αριθμοί των ρυγχών φίλτρου ενδέχεται να διαφέρουν από εκείνους που προβάλλονται στην οθόνη αφής. Συνιστούμε τη φόρτωση του μέγιστου δυνατού αριθμού ρυγχών.

Όγκος έκλουσης

Ο όγκος έκλουσης επιλέγεται στην οθόνη αφής. Ανάλογα με τον τύπο δείγματος και την περιεκτικότητα σε DNA, ο τελικός όγκος εκλούσματος μπορεί να είναι έως και 15 µl μικρότερος από τον επιλεγμένο όγκο. Λόγω των ενδεχόμενων αποκλίσεων του όγκου εκλούσματος, συνιστούμε τον έλεγχο του πραγματικού όγκου εκλούσματος όταν χρησιμοποιείτε αυτοματοποιημένο σύστημα ρύθμισης παραμέτρων προσδιορισμού που δεν επαληθεύει τον όγκο εκλούσματος πριν την μεταφορά. Η έκλουση σε μικρότερους όγκους αυξάνει την τελική συγκέντρωση DNA, μειώνει ωστόσο ελαφρά την απόδοση. Συνιστούμε τη χρήση κατάλληλου όγκου έκλουσης για την προοριζόμενη καθοδική (downstream) εφαρμογή.

Προετοιμασία του δείγματος

Κατά την εργασία με χημικά, φοράτε πάντα κατάλληλη προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφαλείας (safety data sheets, SDS), τα οποία διατίθενται από τον προμηθευτή του προϊόντος.

Σημαντική πληροφορία πριν από την έναρξη

- Τα μαγνητικά σωματίδια QIAsymphony ενδεχομένως θα καθαρίσουν επίσης RNA, εάν υπάρχει στο δείγμα. Για να ελαχιστοποιήσετε την περιεκτικότητα του δείγματος σε RNA, προσθέστε RNάση A στο δείγμα, προτού ξεκινήσετε τη διαδικασία. Η τελική συγκέντρωση RNάσης A θα πρέπει να είναι 2 mg/ml.

Λευκοκρίτης

Ο λευκοκρίτης είναι το εμπλουτισμένο με λευκοκύτταρα κλάσμα του ολικού αίματος. Η αποτελεσματικότητα του εμπλουτισμού σε λευκοκύτταρα εξαρτάται από τη χρησιμοποιούμενη διαδικασία για την παρασκευή του λευκοκρίτη και από την ακρίβεια εκχύλισης της στρώσης του λευκοκρίτη. Παρασκευάστε τον λευκοκρίτη φυγοκεντρίζοντας δείγματα ολικού αίματος που περιέχουν πρότυπο αντιπηκτικό (EDTA, κιτρικά ή ηπαρίνη) σε 900–1100 x *g* για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C). Μετά τη φυγοκέντριση, θα διακρίνονται 3 διαφορετικά κλάσματα:τα: η άνω διαυγής στρώση είναι το πλάσμα, ακολουθεί η ενδιάμεση στρώση του λευκοκρίτη που περιέχει συμπυκνωμένα λευκοκύτταρα και κατόπιν η κάτω στρώση που περιέχει συμπυκνωμένα ερυθροκύτταρα. Περίπου 1 ml κλάσματος που περιέχει λευκοκύτταρα θα πρέπει να συλλέγεται από 10 ml φυγοκεντρισμένου ολικού αίματος, το οποίο κατά μέσο όρο αποδίδει πενταπλάσιο έως εξαπλάσιο (5-6x) εμπλουτισμό. Για παράδειγμα, 10 ml ολικού αίματος με αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων 6 x 10^6 ανά ml αποδίδουν 1 ml λευκοκρίτη. Αν υποτεθεί πενταπλάσιος εμπλουτισμός (5x) λευκών αιμοσφαιρίων, το αποτέλεσμα θα είναι 3 x 10^7 κύτταρα ανά ml. Ως εκ τούτου, σε πρωτόκολλο στο οποίο χρησιμοποιούνται 400 µl λευκοκρίτη, θα χρησιμοποιηθούν 1,2 x 10^7 κύτταρα.

Για τη αποφυγή υπερφόρτωσης της διαδικασίας καθαρισμού DNA, μην παρασκευάζετε δείγματα λευκοκρίτη με εμπλουτισμό άνω του δεκαπλασίου (>10x). Εάν τα δείγματα λευκοκρίτη παρουσιάζουν εμπλουτισμό >10x, αραιώστε τα δείγματα σε δεκαπλάσιο ή χαμηλότερο εμπλουτισμό με PBS ή χρησιμοποιήστε λιγότερο υλικό έναρξης στη διαδικασία καθαρισμού DNA.

Τα δείγματα λευκοκρίτη μπορούν να χρησιμοποιηθούν αμέσως ή να φυλαχθούν στους –20°C ή –70°C για καθαρισμό DNA σε δεύτερο χρόνο. Τα κατεψυγμένα δείγματα θα πρέπει να αποψύχονται ταχέως σε υδατόλουτρο 37°C με ήπια ανακίνηση για τη διασφάλιση σχολαστικής ανάμιξης και κατόπιν να εξισορροπούνται σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) πριν από την έναρξη της διαδικασίας. Για τη διασφάλιση αξιόπιστης μεταφοράς δείγματος, αποφύγετε το σχηματισμό αφρού σε σωληνάρια δειγμάτων. Προσπαθήστε να αποφύγετε το σχηματισμό πηγμάτων αίματος στα δείγματα, και εάν χρειαστεί, μεταφέρετε το δείγμα χωρίς πήγματα σε φρέσκο σωληνάριο.

Ιστορικό αναθεώρησης

Ιστορικό αναθεώρησης εγγράφου	
R3 12/2017	Ενημέρωση για το λογισμικό QIAsymphony έκδοση 5.0

Για ενημερωμένες πληροφορίες άδειας και δηλώσεις αποποίησης ευθύνης σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στις αντίστοιχες οδηγίες ή εγχειρίδιο χρήσης του κιτ QIAGEN®. Οι οδηγίες και τα εγχειρίδια χρήσης των κιτ QIAGEN είναι διαθέσιμα στον ιστότοπο www.qiagen.com. Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το τμήμα Τεχνικής Εξυπηρέτησης της QIAGEN ή τον τοπικό σας αντιπρόσωπο.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (Όμιλος QIAGEN). Οι κατατεθείσες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα κ.ά. που χρησιμοποιούνται στο παρόν έγγραφο δεν θα πρέπει να θεωρηθούν μη προστατευόμενα από τον νόμο, ακόμα κι αν δεν υποδεικνύονται ρητώς.
12/2017 HB-0977-S06-003 © 2017 QIAGEN, με την επιφύλαξη κάθε δικαιώματος.

Παραγγελίες **www.qiagen.com/shop** | Τεχνική υποστήριξη **support.qiagen.com** | Ιστότοπος με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος **www.qiagen.com**