

Březen 2017

Návod k použití sady QIASymphony[®] DSP Circulating DNA (příručka)



192

Verze 1



Pro diagnostické použití in vitro



937556



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden
NĚMECKO



1103177CS

Obsah

Zamýšlené použití	3
Souhrn a vysvětlení	3
Principy postupu	4
Dodávané materiály	6
Obsah sady	6
Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky	7
Varování a bezpečnostní opatření	8
Uchovávání reagensů a nakládání s nimi	10
Komponenty sady	10
Odběr a příprava vzorků	11
Postup	12
Automatická purifikace na přístroji QIASymphony SP	12
Protokol: Purifikace cirkulující bezbuněčné DNA	18
Kontrola kvality	21
Omezení	21
Symboly	22
Řešení problémů	24
Příloha: Kvantifikace cirkulující bezbuněčné DNA	28
Informace pro objednání	29

Zamýšlené použití

Sada QIASymphony DSP Circulating DNA využívá technologie magnetických částic k automatizované izolaci a purifikaci lidské cirkulující bezbuněčné DNA z biologických vzorků.

Tento produkt je určen pro použití profesionálními uživateli, např. techniky a lékaři školenými v technikách molekulární biologie.

Sada QIASymphony DSP Circulating DNA je určena pro diagnostické účely in vitro.

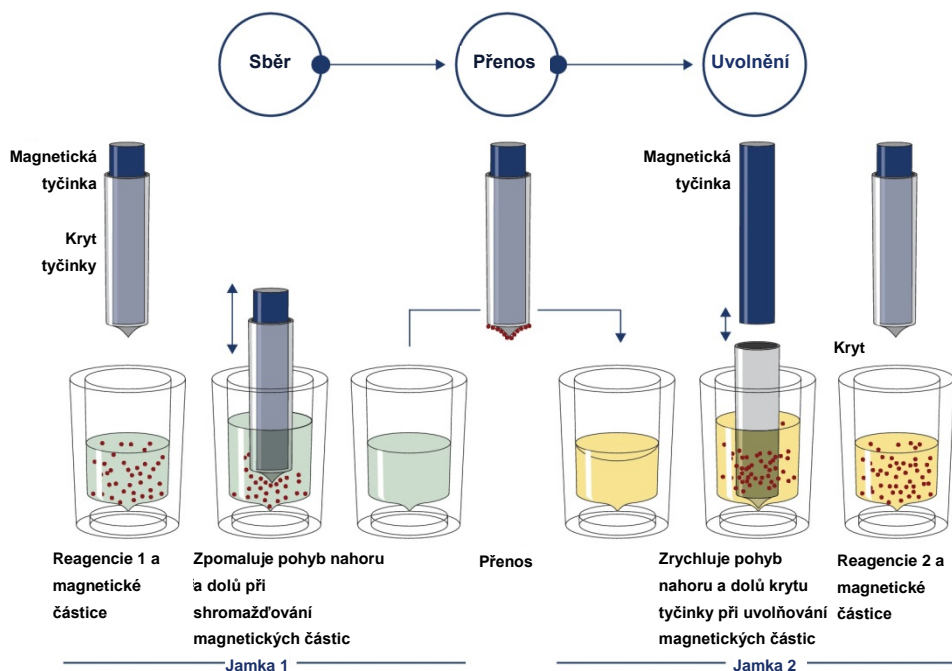
Souhrn a vysvětlení

Cirkulující bezbuněčné nukleové kyseliny (ccfDNA) jsou přítomny v plazmě nebo moči obvykle jako krátké fragmenty, <1000 bp (DNA) <1000 nt (RNA), nebo tak malé jako 20 nt (miRNA). Koncentrace cirkulujících bezbuněčných nukleových kyselin v biologických tekutinách jako je plazma nebo moč je obvykle nízká a mezi jednotlivci se značně liší. Pro ccfDNA může být koncentrace v rozsahu 1–100 ng/ml. Systém QIASymphony DSP circulating DNA představuje in vitro systém k okamžitému použití pro kvalitativní purifikaci lidské cirkulující bezbuněčné DNA z lidské plazmy a moči použitím nástroje QIASymphony SP.

Sada QIASymphony DSP Circulating DNA poskytuje činidla k plně automatizované a simultánní purifikaci lidské ccfDNA z biologických vzorků. Charakteristika chování pro každou zkumavku na odběr krve nebyla stanovena a uživatel ji musí validovat sám. Technologie magnetických částic umožňuje purifikaci vysoce kvalitních nukleových kyselin, které neobsahují proteiny, nukleázu a další nečistoty. Purifikovaná ccfDNA je kompatibilní s celou řadou navazujících aplikací. QIASymphony SP provádí všechny kroky postupu purifikace. V jednom chodu se zpracovává až 96 vzorků v šaržích po 24. Vzorky moči mohou vyžadovat ruční předzpracování vzorku.

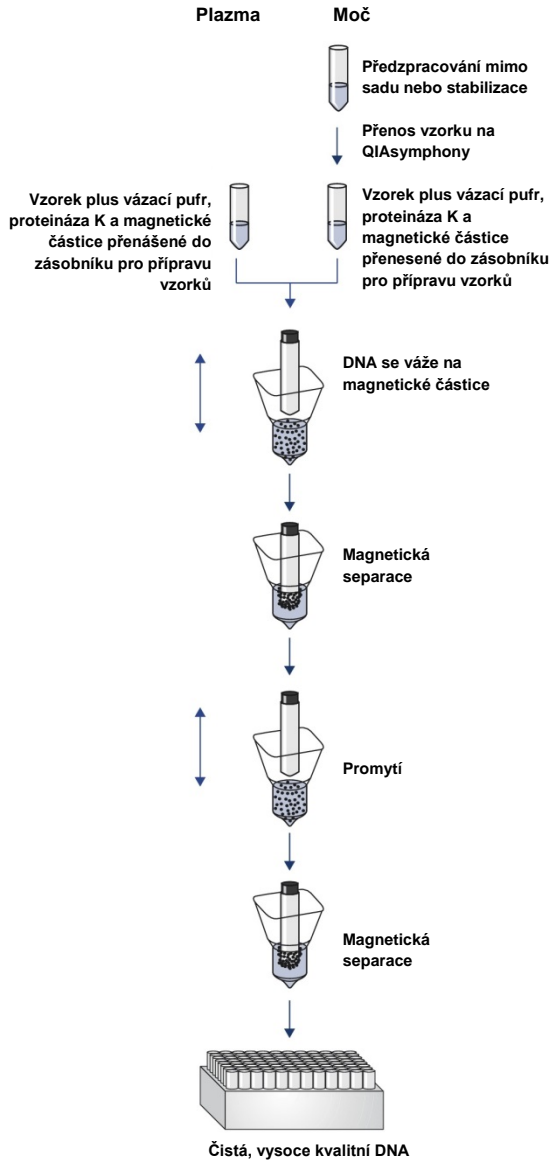
Principy postupu

Technologie QIASymphony kombinuje rychlost a účinnost purifikace nukleové kyseliny na bázi výměny aniontů a pohodlnou manipulaci s magnetickými částicemi (obrázek 1, viz níže). Purifikační postup je určen k zajištění bezpečné a reprodukovatelné manipulace s potenciálně infekčními vzorky a skládá se ze 3 kroků: vázání, promytí a eluce (viz diagram, strana 5). Uživatel si může vybrat mezi různými vstupními objemy vzorků.



Obrázek 1. Schéma principu činnosti přístroje QIASymphony SP. Přístroj QIASymphony SP zpracovává vzorek obsahující magnetické částice následujícím způsobem: Magnetická tyčinka chráněná krytem tyčinky vstoupí do jamky obsahující vzorek a přitahuje magnetické částice. Kryt magnetické tyčinky se umístí nad jinou jamku a magnetické částice se uvolní. Tyto kroky se během zpracování vzorku několikrát opakují. Přístroj QIASymphony SP používá magnetickou hlavu obsahující soupravu 24 magnetických tyčinek, a může proto současně zpracovávat až 24 vzorků.

Postup práce se sadou QIASymphony DSP Circulating DNA



Dodávané materiály

Obsah sady

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit		(192)
Katalogové číslo		937556
Počet reakcí		192
Identita		Množství
RC	Reagent cartridge (Zásobník s reagensy) [*]	2
PROTK	QIAGEN Proteinase K (QIAGEN proteináza K)	6 x 10 ml
PL	Piercing lid (Děrovací víčko)	2
RSS	Reuse Seal Set (Opětovně použitelná uzavírací sada) [‡]	2
	Návod k použití (příručka)	1

[†] Obsahuje azid sodný jako konzervační látku.

^{*} Viz strana 22, kde je seznam symbolů a definic.

[‡] Opakovaně použitelná uzavírací sada obsahuje 8 uzavíracích proužků pro opakované použití.

Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky

Při práci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní plášť, rukavice na jedno použití a ochranné brýle. Další informace jsou uvedeny v příslušných bezpečnostních listech, které lze získat od dodavatele produktu.

Ujistěte se, že byly přístroje kontrolovány a kalibrovány podle doporučení výrobce.

- QIASymphony SP (kat. čís. 9001297)
- Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (8jamkové zásobníky na přípravu vzorků) (kat. čís. 997002)
- 8-Rod Covers (kryty hrotů (po osmi)) (kat. čís. 997004)
- Filter-Tips, 200 µl and 1500 µl (špičky s filtrem, 200 µl a 1500 µl) (kat. čís. 990332 a 997024).
- Zkumavky na vzorky. Kompatibilní primární a sekundární formáty zkumavek viz seznam laboratorního vybavení, který je k dispozici ve zdrojové tabulce na stránce o produktu na www.qiagen.com.
- Eluční zkumavky nebo destičky. Kompatibilní formáty elučních zkumavek a destiček viz seznam laboratorního vybavení, který je k dispozici ve zdrojové tabulce na stránce o produktu na www.qiagen.com.
- Phosphate-buffered saline (PBS) (fosfátem pufovaný fyziologický roztok, může být vyžadován pro doplnění objemu vzorků)
- Vortexer (třepačka)
- Buffer ATL (Pufr ATL) (pro předzpracování vzorků moči; katalogové číslo 939016)
- Další materiály pro předzpracování a stabilizaci vzorků moči viz příslušný list protokolu, který je k dispozici ve zdrojové tabulce na stránce o produktu na www.qiagen.com.

Varování a bezpečnostní opatření

Pro diagnostické použití in vitro

Před použitím sady si pečlivě přečtěte všechny pokyny.

Při práci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní plášť, rukavice na jedno použití a ochranné brýle. Další informace jsou uvedeny v odpovídajících bezpečnostních listech (BL). Bezpečnostní listy jsou k dispozici online ve formátu PDF na stránkách **www.qiagen.com/safety**, kde si uživatelé mohou vyhledat, zobrazit a vytisknout BL pro každou sadu QIAGEN a pro každou komponentu příslušné sady.

VAROVÁNÍ Nebezpečí poranění osob



Nepřidávejte roztoky bělicích prostředků nebo kyselin přímo do odpadních materiálů z přípravy vzorků.

Pufry v zásobníku s reagenциemi (RC) obsahují azid sodný. V případě rozlití pufrů této sady vyčistěte kontaminované místo vhodným laboratorním detergentem a vodou. Pokud rozlité tekutina obsahuje potenciálně infekční látky, vyčistěte zasaženou oblast nejprve laboratorním detergentem a vodou a poté 1 % (obj.) roztokem chlornanu sodného.

Pro jednotlivé komponenty sady QIASymphony DSP Circulating DNA platí následující pokyny týkající se rizika a bezpečnostních opatření.

MBS3

Obsahuje: Azid sodný. Varování! Může být zdraví škodlivý při požití. Kontaktujte TOXIKOLOGICKÉ CENTRUM nebo lékaře, pokud se necítíte dobře.

Proteináza K



Obsahuje: Proteinázu K. Varování! Způsobuje mírné podráždění kůže. Při vdechnutí může vyvolat příznaky alergie nebo astmatu, případně dechové obtíže. Vyvarujte se vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/výparů/aerosolů. Obsah i nádobu odevzdávejte do schváleného zařízení na likvidaci odpadu. Při dýchacích potížích: Kontaktujte TOXIKOLOGICKÉ CENTRUM nebo lékaře. PŘI VDECHNUTÍ: Při obtížném dýchání přeneste postiženého na čerstvý vzduch a ponechte ho v klidu v poloze usnadňující dýchání. Používejte ochranný respirátor.

QSE2



Varování! Způsobuje vážné popáleniny kůže a poškození očí. Obsah i nádobu odevzdávejte do schváleného zařízení na likvidaci odpadu. PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Opatrně proplachujte několik minut vodou. Vyjměte kontaktní čočky, pokud je nosíte a jde to snadno. Pokračujte v proplachování. PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Okamžitě odstraňte nebo svlékněte veškeré kontaminované oblečení. Opláchněte pokožku vodou / osprchujte ji. Ihned kontaktujte TOXIKOLOGICKÉ CENTRUM nebo lékaře. Skladujte uzamčené. Noste ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít.

QSW9



Obsahuje: etanol. Varování! Způsobuje vážné podráždění očí. Vysoce hořlavá kapalina a výpary. Obsah i nádobu odevzdávejte do schváleného zařízení na likvidaci odpadu. Pokud podráždění očí

přetrvává: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. Chraňte před teplem / jiskrami / otevřeným plamenem / horkými povrchy. – Zákaz kouření. Skladujte na dobře větraném místě. Uchovávejte v chladu. Noste ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít.

Uchovávání reagensů a nakládání s nimi

Sada QIASymphony DSP Circulating DNA se musí uchovávat ve svislé poloze při pokojové teplotě (15–25 °C). Magnetické částice v zásobnících s reagensy (RC) zůstávají při uchovávání za této teploty aktivní.

Poznámka: Štítky na sadě QIASymphony DSP Circulating DNA udávají dobu použitelnosti sady. Soubor s výsledky dokumentuje doby použitelnosti pouze pro zásobník s reagensy (RC).

Nepoužívejte sadu QIASymphony DSP Circulating DNA po uplynutí doby použitelnosti.

Komponenty sady

Sada QIASymphony DSP Circulating DNA obsahuje roztok proteinázy K připravený k použití, který se může skladovat při pokojové teplotě.

Zásobníky s reagensy (RC) neuchovávejte při teplotách pod 15 °C.

Částečně použité zásobníky s reagensy (RC) lze uchovávat maximálně po dobu 4 týdnů, což umožňuje úsporné opakované použití reagensů a pružnější zpracování vzorků. Pokud se zásobník s reagensy (RC) použije částečně, vyměňte kryt vaničky obsahující magnetické částice a uzavřete zásobník s reagensy (RC) dodávanými opětovně

použitelnými uzavíracími proužky bezprostředně po skončení chodu protokolu, aby nedošlo k odpařování.

Pokud se má zabránit odpařování reagentie, je nutné otevírat zásobník s reagentiemi (RC) maximálně na 15 hodin (včetně doby chodu) při maximální teplotě prostředí 32 °C. Nesprávné skladování složek sady může vést k rychlejšímu stárnutí pufrů.

Zpracování šarží s nízkým počtem vzorků (<24) zvyšuje jak dobu, po níž je zásobník s reagentiemi (RC) otevřený, tak požadované objemy pufru, což potenciálně snižuje celkový počet možných stanovení vzorků na zásobník.

Chraňte zásobník s reagentiemi před působením UV záření (např. použité pro dekontaminaci), protože expozice může způsobit rychlejší stárnutí zásobníků s reagentiemi (RC) a pufrů.

Odběr a příprava vzorků

Více informací o automatizovaném postupu (včetně informací o zkumavkách pro vzorky, které lze použít se specifickými protokoly) a o specifickém předzpracování zkumavek viz příslušný list protokolu, který je k dispozici ve zdrojové tabulce na stránce o produktu na www.qiagen.com.

Postup

Automatická purifikace na přístroji QIASymphony SP

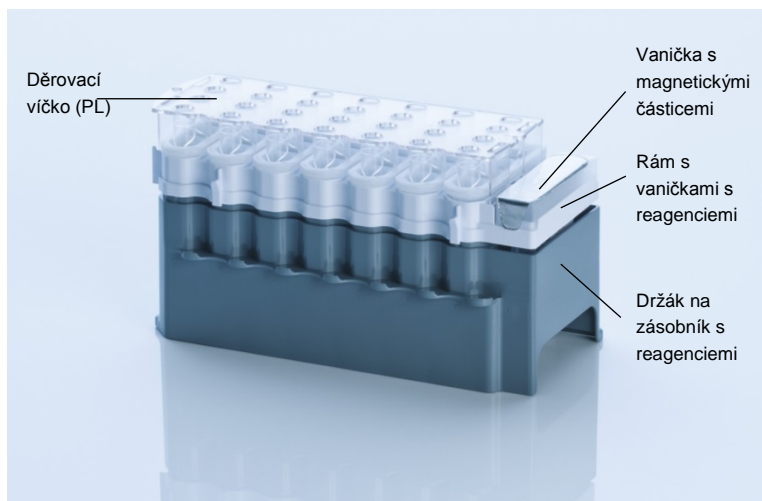
Přístroj QIASymphony SP usnadňuje automatickou přípravu vzorků a zvyšuje pohodlí přípravy. Vzorky, reagentie, spotřební materiál a eluace jsou odděleně uchovávány v různých zásuvkách. Před vlastní analýzou jednoduše vložte vzorky, reagentie dodávané ve speciálních zásobnících a spotřební materiál předem umístěný ve stojánku do příslušné zásuvky. Spusťte protokol a po zpracování vyjměte purifikovanou DNA ze zásuvky "Eluate" (Eluát). Instrukce naleznete v uživatelském manuálu dodávaném s Vašimi přístroji.

Poznámka: Volitelná údržba není pro funkci přístroje povinná, ale velmi ji doporučujeme pro snížení rizika kontaminace.

Rozsah protokolů, které jsou k dispozici, se neustále rozšiřuje a další protokoly QIAGEN lze zdarma stáhnout na www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Vkládání zásobníků s reagentiemi (RC) do zásuvky "Reagents and Consumables" (Reagentie a spotřební materiál).

Reagentie pro purifikaci DNA jsou obsaženy v inovativním zásobníku s reagentiemi (RC) (viz obrázek 2 strana 13). Každá vanička zásobníku s reagentiemi (RC) obsahuje speciální reagentie jako např. magnetické částice, vázací pufr, promývací pufr nebo eluční pufr. Jen částečně použité zásobníky s reagentiemi (RC) lze znovu uzavřít pomocí opětovně použitelných uzavíracích proužků (RSS) pro pozdější použití, čímž se předchází vytváření odpadu v důsledku zbylých reagentií na konci purifikační procedury.



Obrázek 2. Zásobník s reagensy (RC) přístroje QIASymphony. Zásobník s reagensy (RC) obsahuje všechny reagenty potřebné pro chod protokolu.

Před začátkem procedury se ujistěte, že jsou magnetické částice plně resuspendovány. Před prvním použitím vyjměte vaničku s magnetickými částicemi z podstavce zásobníku s reagensy, rázně ji minimálně 3 minuty vortexujte, a potom vložte zpátky do podstavce.

Poznámka: Magnetické částice mohou měnit barvu. To nemá vliv na výkon.

Vložte zásobník s reagensy (RC) do držáku zásobníků s reagensy. Před prvním použitím zásobníku s reagensy (RC) umístěte děrovací víčko (PL) navrch zásobníku s reagensy (RC) (obrázek 2, nahoře).

Poznámka: Děrovací víčko je ostré (PL). Buďte opatrní při jeho umístění navrch zásobníku s reagensy (RC). Ujistěte se, že jste umístili děrovací víčko (PL) na zásobník s reagensy (RC) ve správném směru.

Po odstranění vaničky s magnetickými částicemi se následně do zásuvky “Reagents and Consumables” vloží zásobník s reagensy (RC).

Částečně použité zásobníky s reagensy (RC) lze uchovávat, dokud jich nebude znovu zapotřebí (viz "Uchovávání reagensů a nakládání s nimi" strana 10).

Poznámka: Proteináza K musí být přidávána podle informací v listu protokolu podle zdrojové tabulky na stránce o produktu na www.qiagen.com.

Poznámka: Ujistěte se, že zásobník s reagensy, vaničky s magnetickými částicemi a lahve s proteinázou K nejsou mezi různými šaržemi sady zaměněny.

Vkládání umělohmotného materiálu do zásuvky "Reagents and Consumables"

Zásobníky pro přípravu vzorků, kryty hrotů po osmi (oboje je seskládáno do boxů na jednotky) a jednorázové špičky s filtrem (200 µl špičky se dodávají v modrých stojáncích, 1500 µl špičky v černých stojáncích) se vkládají do zásuvky "Reagents and Consumables".

Poznámka: Ujistěte se, že jsou víka boxů s jednotkami před vložením boxů do zásuvky "Reagents and Consumables" odstraněna.

Poznámka: Špičky mají filtry jako prevenci křížových kontaminací.

Do drážek pro stojánky na špičky na pracovní ploše QIASymphony SP lze vložit kterýkoliv typ stojánku na špičky. QIASymphony SP definuje typ vložených špiček během kontroly vloženého obsahu.

Poznámka: Nedoplňujte stojánky na špičky ani boxy se zásobníky pro přípravu vzorků nebo 8hrotové kryty před spuštěním dalšího běhu. QIASymphony SP umí použít částečně užitá stojánky na špičky a boxy s jednotkami.

Kompatibilní formáty elučnicích zkumavek a destiček viz seznam laboratorního vybavení, který je k dispozici ve zdrojové tabulce na stránce o produktu na www.qiagen.com. Další informace o objednávání umělohmotného materiálu viz strana 29.

Plnění zásuvky "Waste" (Odpad)

Zásobníky pro přípravu vzorků a kryty hrotů použité během běhu se seskládají zpět do prázdných boxů v zásuvce "Waste". Ujistěte se, že zásuvka "Waste" obsahuje dostatečné množství prázdných boxů pro plastový odpad generovaný při běhu.

Poznámka: Ujistěte se, že jsou víka boxů s jednotkami před vložením boxů do zásuvky "Waste" odstraněna. Používáte-li boxy pro kryty hrotů pro sběr použitých zásobníků pro přípravu vzorků a kryty hrotů, ujistěte se, že z nich byla odstraněna distanční vložka.

Sáček pro použité špičky s filtrem musí být připevněn k přední straně zásuvky "Waste".

Poznámka: Přítomnost odpadního sáčku na špičky není systémem kontrolována. Před začátkem běhu se ujistěte, že je odpadní sáček správně připevněn. Více informací naleznete v uživatelských manuálech dodávaných s Vaším přístrojem. Vyprázdněte odpadní sáček po zpracování maximálně 96 vzorků, aby se zamezilo nakupení špiček.

Odpadní kontejner sbírá tekutý odpad generovaný během purifikační procedury. Zásuvku "Waste" lze zavřít jen tehdy, pokud je odpadní kontejner na místě. Tekutý odpad likvidujte podle místních bezpečnostních a ekologických předpisů. Naplněné odpadní nádoby neautoklávejte. Vyprázdněte odpadní nádoby po zpracování maximálně 96 vzorků.

Plnění zásuvky "Eluate"

Vložte požadovaný stojánek s elučními zkumavkami do zásuvky "Eluate". Je potřeba použít chladič polohu, protože dlouhodobé skladování eluátů v zásuvce „Eluate“ může vést k jejich odpařování nebo kondenzaci. Použijte pouze drážku "Elution slot 1" s odpovídajícími chladičnými adaptéry.

Kontrola vloženého obsahu

Před spuštěním běhu přístroj zkontroluje, zda bylo do příslušných zásuvek vloženo pro testované sady dostatečné množství spotřebního materiálu.

Příprava materiálu vzorků

Sada QIAAsymphony DSP circulating DNA je určena pro automatizovanou purifikaci cirkulující bezbuněčné DNA z lidské plazmy a moči (tabulka 1, strana 17).

Zamezte vytvoření pěny na vzorcích nebo v nich. Pěna na vzorcích může vést k pipetování nesprávného objemu vzorku. V závislosti na výchozím materiálu se může vyžadovat předzpracování vzorku. Vzorky by měly být před začátkem protokolu ekvilibrovány na pokojovou teplotu (15–25 °C).

Více informací o automatizovaném postupu (včetně informací o zkumavkách pro vzorky, které lze použít se specifickými protokoly) a o specifickém předzpracování zkumavek viz příslušný list protokolu, který je k dispozici ve zdrojové tabulce na stránce o produktu na www.qiagen.com.

Skladování DNA

Po přípravě vzorku lze eluáty skladovat při teplotě 2–8 °C až po dobu 1 měsíce. Pro dlouhodobé skladování mohou být eluáty uskladněny při –20 °C nebo při –80 °C. Zmražené vzorky eluátů se nesmí roztavit více než třikrát.

Přehled o protokolu

Tabulka 1. Přehled o protokolu

Vzorek	Objem vzorku (μl)	Eluční objem (μl)	Protokol QIASymphony SP
Plazma, moč	2000	60	circDNA_2000_DSP
	4000	60	circDNA_4000_DSP

Důležité body, než začnete

- Ujistěte se, že jste dobře obeznámeni s obsluhou přístroje QIASymphony SP. Instrukce naleznete v uživatelském manuálu dodávaném s Vašimi přístroji.
- Volitelná údržba není pro funkci přístroje povinná, ale velmi ji doporučujeme pro snížení rizika kontaminace.
- Před začátkem procedury si přečtěte „Principy postupu“, strana 4.
- Ujistěte se, že jste dobře obeznámeni s protokolem příslušným k dané proceduře, kterou chcete použít. (Listy protokolu jsou k dispozici ve zdrojové tabulce na stránce o produktu na www.qiagen.com).
- Vyhněte se prudkému třepání zásobníkem s reagenциemi (RC), jinak by se mohla vytvořit pěna, která může vést k problémům s detekcí hladiny tekutiny.
- Před začátkem předzpracování, které vyžaduje pufr ATL zkontrolujte, zda se vytvořil v pufru ATL precipitát. Pokud je to nutné, rozpusťte precipitát zahřátím pufru na 70 °C za jemného míchání ve vodní lázni. Odsajte bubliny z povrchu pufru ATL.

Co je třeba udělat, než začnete

- Před začátkem procedury se ujistěte, že jsou magnetické částice plně resuspendovány. Vaničku obsahující magnetické částice před prvním použitím minimálně 3 minuty rázně vortexujte.

- Ujistěte se, že je děrovací víčko umístěno na zásobníku s reagensiemi a že víčko vaničky s magnetickými částicemi bylo odstraněno nebo - pokud používáte částečně použitý zásobník s reagensiemi - se ujistěte, že byly odstraněny opětovně použitelné uzavírací proužky.
- Proteináza K není součástí zásobníku s reagensiemi, takže ji musí zajistit uživatel (zásuvka se vzorky, drážka A, pozice 1 a/nebo 2). Zajistěte, aby byl k dispozici správný objem proteinázy K. (Pro další informace viz list protokolu, který je k dispozici ve zdrojové tabulce na stránce o produktu www.qiagen.com).
- Pokud jsou vzorky označeny čárovým kódem, vložte je do nosiče zkumavky nasměrované tak, aby čárové kódy ležely čelem ke čtečce čárových kódů na levé straně přístroje QIASymphony SP.
- Informace o zkumavkách na vzorky kompatibilními s konkrétním protokolem viz odpovídající seznam laboratorního vybavení, který je k dispozici ve zdrojové tabulce na stránce o produktu na www.qiagen.com.
- Informace o minimálním objemu vzorků pro sekundární zkumavky viz odpovídající seznam laboratorního vybavení, který je k dispozici ve zdrojové tabulce na stránce o produktu na www.qiagen.com.

Protokol: Purifikace cirkulující bezbuněčné DNA

Následující popis je obecný protokol pro používání sad QIASymphony DSP. Podrobné informace pro každý protokol, včetně objemů a zkumavek, jsou uvedeny v listech protokolu, který je k dispozici ve zdrojové tabulce na stránce o produktu na www.qiagen.com.

1. Zavřete všechny zásuvky a víko.
2. Zapněte přístroje QIASymphony SP a vyčkejte, dokud se neobjeví obrazovka „**Sample Preparation**“ (Příprava vzorků) a nedokončí se inicializační proces.
Vypínač je umístěn v levém spodním rohu přístroje QIASymphony SP.
3. Přihlaste se do přístroje.

4. Vložte požadovaný stojánek s elučními zkumavkami do zásuvky “Eluate”.
Nevkládejte 96jamkovou destičku do drážky „Elution slot 4“ (Elučním slotu 4). Musí být použita drážka “Elution slot 1” s odpovídajícím chladičím adaptérem.
Dbejte na správnou orientaci 96jamkové destičky, protože nesprávné umístění může způsobit smíchání vzorků v navazujících krocích analýzy.
Při použití stojanu na eluční mikrozkušavky CL odstraňte spodní stranu otáčením stojanu, až se spodek uvolní.
5. Ujistěte se, že je zásuvka “Waste” správně připravená a proveďte kontrolu vloženého obsahu, včetně zlábků na špičky a na tekutý odpad. V případě potřeby vyměňte odpadní sáček.
6. Vložte požadované zásobníky s reagensy (RC) a spotřební materiál do zásuvky “Reagents and Consumables”.
7. Proveďte kontrolu vloženého obsahu zásuvky “Reagents and Consumables”.
8. Umístěte vzorky do správného nosiče vzorků a vložte je do zásuvky “Sample” (Vzorek).
9. Pomocí dotekové obrazovky zadejte požadované informace o každé zpracovávané sadě vzorků a pro proteinázu K.
Zadejte následující informace:
 - Informace o vzorku (v závislosti na použitých stojáncích na vzorky)
 - Protokol, který se má spustit (množina analytických kontrol)
 - Eluční objem a výstupní pozici
- Po zadání informací o sadě se status změní z **LOADED** (NAPLNĚNO) na **QUEUED** (ZAŘAZENO). Jakmile je jedna sada zařazena, objeví se tlačítko **Run** (Spustit).
10. Umístěte proteinázu K do správného nosiče vzorků na pozici 1 a 2 a vložte je do drážky A zásuvky “Sample”.
11. Definujte proteinázu K stisknutím tlačítka **IC**.
12. Stiskněte tlačítko **Run** pro spuštění purifikační procedury.

Všechny kroky zpracování jsou plně automatizované. Na konci protokolu se status změní z **RUNNING** (ZPRACOVÁVÁ SE) na **COMPLETED** (DOKONČENO).

13. Vytáhněte eluační stojan obsahující purifikované nukleové kyseliny ze zásuvky „Eluate“.

14. DNA lze hned použít nebo může být skladována při 2–8 °C, –20 °C, nebo –80 °C.

Doporučujeme vyjmout eluační destičku ze zásuvky "Eluate" ihned poté, co protokol skončil. V závislosti na teplotě a vlhkosti mohou eluační destičky ponechané v QIASymphony SP po dokončení běhu podlehnout kondenzaci nebo evaporaci.

Obecně platí, že se magnetické částice do eluátů nepřenášejí. Pokud k přenosu dojde, magnetické částice v eluátu většinu navazujících aplikací neovlivní.

Pokud je magnetické částice potřeba před dalšími aplikacemi odstranit, je třeba nejprve zkumavky nebo destičky obsahující eluát umístit do vhodného magnetu a přesunout eluáty do čisté zkumavky (viz "Příloha: Kvantifikace cirkulující bezbuněčné DNA", strana 28).

Pro každou eluační destičku je generován soubor s výsledky.

15. Pokud byly zásobníky s reagensy použité pouze částečně, zapečetěte je po skončení běhu protokolu pomocí dodávaných opětovně použitelných uzavíracích proužků, aby se zamezilo vypařování.

Poznámka: Další informace o skladování částečně použitých zásobníků s reagensy (RC) viz „Uchovávání reagensů a nakládání s nimi,“ strana 10.

16. Použité zkumavky na vzorky a odpad likvidujte podle místních bezpečnostních předpisů.

Viz bezpečnostní informace Varování a bezpečnostní opatření na straně 8.

17. Vyčistěte QIASymphony SP.

Postupujte podle pokynů pro údržbu v příručkách uživatele dodávaných s přístrojem. Zajistěte pravidelné čištění krytů špiček, aby se minimalizovalo riziko křížových kontaminací.

18. Uzavřete zásuvky přístroje a VYPNĚTE přívod proudu k QIASymphony SP.

Kontrola kvality

V souladu se systémem řízení kvality QIAGEN certifikovaným ISO se testuje každá šarže sady QIASymphony DSP Circulating DNA vůči předem stanoveným specifikacím, aby se zajistila konzistentní kvalita výrobku.

Omezení

Chování systému bylo vytvořeno ve studiích hodnotících chování, které se zabývají purifikací lidské cirkulující bezbuněčné DNA z lidské plazmy a moči.

Uživatel odpovídá za validaci chování systému v souvislosti s jakýmkoliv postupy použitými v jeho laboratoři, které nejsou zahrnuty do studií hodnotících chování QIAGEN.

Pro minimalizaci rizika negativního dopadu na diagnostické výsledky je zapotřebí používat pro aplikace v dalších stupních analýzy odpovídající kontroly. Pro další validaci se doporučují pokyny Mezinárodní konference o harmonizaci technických požadavků (ICH) uvedené v dokumentu *Validace analytických postupů* ICH Q2(R1): Doporučuje se *Text a metodologie*.

Jakékoliv získané diagnostické výsledky se musí interpretovat v kontextu ostatních klinických nebo laboratorních nálezů.

Symboly

V následující tabulce se používají tyto symboly, a to včetně symbolů uvedených v tomto návodu k použití:



<N>

Obsahuje reagentie pro <N> reakcí



Použijte do



Prostředek zdravotnické techniky pro in vitro diagnostiku



Katalogové číslo



Číslo šarže



Číslo materiálu (tj. označení dílu)



Komponenty (tj. seznam toho, co je zahrnuto)



Obsah (obsah)



Počet (tj. injekční lahvičky, lahvičky)

GTIN

Mezinárodní číslo obchodní položky GTIN

Rn

R označuje revizi návodu k použití (příručky) a n je počet revizí



Teplotní rozmezí



Výrobce



Další informace viz návod k použití



Upozornění

PROTK

Proteináza K

WELL

Číslo jamky (tj. jamky zásobníku s reagensy)

REAG | **CART**

Zásobník s reagensy

Sodium azide

Azid sodný

Řešení problémů

V této kapitole naleznete užitečné informace, které Vám mohou pomoci při řešení případných problémů. Více informací naleznete na zadním obalu nebo www.qiagen.com.

Komentáře a návrhy

Obecná manipulace

Chybová zpráva na dotykové obrazovce	Pokud se objevila chybová zpráva během protokolu, nahlédněte do uživatelské příručky dodávané s Vaším přístrojem.
--------------------------------------	---

Precipitáty ve vaničkách s reagensii otevřeného zásobníku sady

QIASymphony DSP

- | | |
|--|---|
| a) Odpařování pufrů | Rozsáhlé vypařování může vést ke zvýšené koncentraci soli v pufrch. Zlikvidujte zásobník s reagensii (RC). Pokud je nepoužíváte při purifikaci, ujistěte se, že jste uzavřeli vaničky s pufrů částečně použitých zásobníků s reagensii (RC) pomocí opětovně použitelných uzavíracích proužků. |
| b) Uchovávání zásobníků s reagensii (RC) | Skladování zásobníků s reagensii (RC) při teplotách pod 15 °C může vést k tvorbě precipitátů. |

Nízký výtěžek DNA

- | | |
|--|--|
| a) Magnetické částice nebyly plně resuspendovány | Před začátkem procedury se ujistěte, že jsou magnetické částice plně resuspendovány. Před použitím je minimálně 3 minuty vortexujte. |
|--|--|

Komentáře a návrhy

- b) Ucpávání pipetovacích špiček v důsledku nerozpustného materiálu
- Ze vzorků nebyl před začátkem QIAsymphony purifikační procedury vyjmut nerozpustný materiál.
- Pokud je to nutné, použijte postupy předzpracování, jak jsou popsány v odpovídajícím listu protokolu, který je k dispozici ve zdrojové tabulce na stránce o produktu na www.qiagen.com.
- c) Vzorek materiálu obsahující nízkou koncentraci cirkulující bezbuněčné DNA
- Kvůli velmi nízkému množství cirkulující bezbuněčné DNA ve vzorku materiálu je možné, že v závislosti na použité kvantifikační metodě nepůjde detekovat koncentraci DNA.
- Ke kontrole koncentrace DNA v eluátech se doporučuje použít citlivý qPCR test.
- d) Neúplné opětovné uzavření zásobníku s reagensii
- Výměna s okolním vzduchem může vést ke snížené stabilitě pufrů, což má za následek snížení účinnosti extraktu ccfDNA s částečně použitým zásobníkem s reagensii (RC). Pokud je nepoužíváte při purifikaci, ujistěte se, že jste pečlivě uzavřeli vaničky s pufrů částečně použitých zásobníků s reagensii pomocí opětovně použitelných uzavíracích proužků.

Komentáře a návrhy

- e) Rychlá degradace cirkulující bezbuněčné DNA v nestabilizovaném vzorku moči
- Kvůli rychlé degradaci cirkulující bezbuněčné DNA v nestabilizovaném vzorku moči po sběru vzorku je možné, že v eluátu nebude detekována žádná koncentrace DNA nebo jen v nízkém množství. Doporučuje se stabilizovat vzorek moči tak, jak je popsáno v příslušném protokolu.
- Případně se doporučuje vystavit vzorek moči ihned po sběru a centrifugaci ATL-předzpracování a následné extrakci DNA na přístroji, jak je popsáno v příslušném listu protokolu.

Neúplný/žádný přenos vzorků

- a) Dojde k naplnění nesprávného objemu vzorku
- Pokud se naplní méně než 2,4 ml objemu vzorku a 4,5 ml objemu vzorku v tomto pořadí, zvyšuje se riziko nejasného snižování vzorku nebo nedojde k přenosu vzorku (chybné snižování).
- Naplňte zkumavku správným objemem vzorku tak, jak je popsáno v příslušném seznamu laboratorního vybavení. Pokud je vzorek nedostatečný, přidejte před plněním do vzorku PBS až do požadovaného objemu vzorku.
- b) Bublinky a/nebo pěna ve zkumavce na vzorky
- Bublinky nebo pěna ve vzorku a/nebo zkumavce na vkládání vzorků mohou vést k chybné detekci hladiny tekutiny a následnému neúplnému přenosu vzorku. Odstraňte bublinky ze zkumavky na vzorky.

Komentáře a návrhy

Bublinky na špičkách viditelné během provozu přístroje

Použijte laboratorní vybavení FIX v kombinaci se sníženým vloženým objemem vzorku

Pokud se naplní méně než 2,1 ml objemu vzorku a 4,1 ml objemu vzorku v tomto pořadí pomocí laboratorního vybavení FIX, zvyšuje se riziko sníženého přenosu objemu vzorku, který není detekován přístrojem. Výsledkem může být tvorba bublinek během přenosu vzorku a/nebo následné vázání.

Naplňte zkumavku správným objemem vzorku tak, jak je popsáno v příslušném seznamu laboratorního vybavení pomocí laboratorního vybavení FIX. Pokud je vzorek nedostatečný, přidejte před plněním do vzorku PBS až do požadovaného objemu vzorku.

Příloha: Kvantifikace cirkulující bezbuněčné DNA

Kvůli velmi nízké koncentraci cirkulující bezbuněčné DNA ve vzorku materiálu se nedoporučuje měření DNA spektrofotometrem. Pro stanovení koncentrace cirkulující bezbuněčné DNA by se měla použít citlivá a přesná kvantitativní chemická analýza na bázi fluorescence nebo real-time PCR testu.

Pokud je potřeba odstranit magnetické částice, použijte zkumavku obsahující DNA do vhodného magnetického separátoru (např. magnet pro 12 zkumavek QIAGEN, kat. č. 36912), dokud nejsou všechny magnetické částice odděleny.

Pokud je DNA v mikrodestičkách, použijte mikrosedestičku do vhodného magnetického separátoru (např. QIAGEN 96jamkový magnet typu A, kat. č. 36915), dokud nejsou všechny magnetické částice odděleny. Pokud není vhodný magnetický separátor k dispozici, centrifugujte zkumavku obsahující DNA po dobu 1 minuty při plné rychlosti v mikrocentrifuze, abyste peletovali všechny zbývající magnetické částice.

Informace pro objednání

Produkt	Obsah	Kat. č.
QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	Zahrnuje 2 zásobníky s reagensiemi a zkumavky s proteinázou K a příslušenství	937556
QIASymphony SP		
QIASymphony SP	QIASymphony modul pro přípravu vzorků, roční záruka na součástky a servis	9001297
Související výrobky		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	4 x 50 ml pufr ATL pro předzpracování vzorků moči	939016
Proteináza K (10 ml)	Láhev 1 x 10 ml	1105392
Reagent Cartridge Holder (2)	Držák zásobníku s reagensiemi pro použití s přístrojem QIASymphony SP	997008
Cooling Adapter, 2 ml, v2, Qsym	Chladicí adaptér pro 2 ml zkumavky se šroubovacím uzávěrem. Pro použití se zásuvkou QIASymphony "Eluate"	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Chladicí adaptér pro EMT stojánky. Pro použití se zásuvkou QIASymphony "Eluate"	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Chladicí adaptér pro 1,5 ml Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-zkumavky s bezpečnostním zacvakávacím uzávěrem. Pro použití se zásuvkou QIASymphony "Eluate"	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	8jamkové zásobníky pro přípravu vzorků pro použití s přístrojem QIASymphony SP	997002

Produkt	Obsah	Kat. č.
8-Rod Covers (144)	8hrotové kryty pro použití s přístrojem QIASymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Jednorázové špičky s filtrem, seskládané (8 x 128). Pro použití s přístroji QIAcube® a QIASymphony SP/AS	990332
Špičky s filtrem, 1500 µl (1024)	Jednorázové špičky s filtrem, seskládané (8 x 128). Pro použití s přístrojem QIASymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Odpadní sáčky na špičky pro použití s přístrojem QIASymphony SP/AS	9013395
12-Tube Magnet	Magnet pro separaci magnetických částic v 12 x 1,5 ml nebo 2 ml zkumavkách	36912
96-Tube Magnet	Magnet pro separaci magnetických částic v jamkách 96jamkových destiček, 2 x 96jamkové mikrodestičky FB	36915
Reuse Seal Set (20)	Opětovně použitelné uzavírací proužky pro uzavření částečně použitých QIASymphony zásobníků s reagensy	997006
Elution Microtubes CL (24 x 96)	Nesterilní polypropylenové zkumavky (maximální kapacita 0,85 ml, méně než 0,7 ml úložné kapacity, 0,4 ml eluční kapacity); 2304 ve stojácích po 96; včetně stripů s víčky	19588

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifická pro výrobek jsou uvedeny v příručce pro sadu QIAGEN nebo příručce uživatele. Příručky k sadám a uživatelské příručky k produktům QIAGEN jsou dostupné na www.qiagen.com nebo na požádání u technických služeb QIAGEN nebo místního distributora.

Koupě tohoto produktu opravňuje kupujícího k jeho užití k provedení diagnostických služeb pro humánní in vitro diagnostiku. Tímto se neuděluje žádný jiný obecný patent nebo licence jiného druhu než toto specifické právo k používání vyplývající z nákupu.

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

Registrované názvy, ochranné známky atd. použité v tomto dokumentu, a to i v případě, že takto nejsou výslovně označeny, nejsou považovány za zákonem nechráněné.

Omezená licenční smlouva pro sadu QIASymphony DSP Circulating DNA

Použitím produktu vyjadřuje kupující nebo uživatel tohoto produktu souhlas s následujícími podmínkami:

1. Tento produkt může být používán pouze v souladu s protokoly, které jsou součástí produktu a této příručky a pouze pro použití s komponenty obsaženými v soupravě. QIAGEN neuděluje žádnou licenci podle žádného svého práva k duševnímu majetku na používání příložených komponent této sady s jakýmkoliv komponenty, které nejsou součástí této soupravy, s výjimkami popsány v protokolech dodávaných s produktem, v této příručce a v dalších protokolech dostupných na adrese www.qiagen.com. Některé z těchto dalších protokolů byly poskytnuty uživateli společnosti QIAGEN dalším uživatelům QIAGEN. Tyto protokoly nebyly společností QIAGEN podrobně testovány ani optimalizovány. QIAGEN za ně neručí ani neposkytuje záruky za to, že nebudou porušovat práva třetích stran.
2. Mimo výslovně uvedené licence QIAGEN neposkytuje žádnou záruku, že tato souprava a/nebo její použití neporušuje práva třetích stran.
3. Tato souprava a její komponenty jsou licencovány pro jedno použití a nesmí být znovu použity, obnoveny či znovu prodány.
4. QIAGEN specificky odmítá jakékoliv další výslovné nebo nepřímé licence s výjimkou těch, které jsou uvedeny výslovně.
5. Kupující a uživatel soupravy souhlasí s tím, že podnikne nebo nikomu neumožní podniknout kroky, které by mohly vést nebo usnadnit zakázané úkony uvedené výše. QIAGEN může zákazy tohoto Omezeného licenčního ujednání prosadit u každého soudu a vyžadovat úhradu všech vyšetřovacích a soudních poplatků, vč. poplatků za advokáta, v rámci jakéhokoliv postupu k prosazení tohoto Omezeného licenčního ujednání nebo jakýchkoliv jiných práv duševního vlastnictví vztahujících se na tuto soupravu a/nebo její komponenty.

Pro aktualizovanou licenční ustanovení viz www.qiagen.com.

HB-2309-002 1103177CS 157018501 03/2017

© 2017 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

