

Grudzień 2017

Karta protokołu QIAasymphony[®] SP

Protokół Cellfree500_V5_DSP

Niniejszy dokument to *karta protokołu QIAasymphony SP Cellfree500_V5_DSP R2* dla zestawu QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, wersja 1.

Informacje ogólne

Zestaw QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit jest przeznaczony do diagnostyki in vitro.

Zestaw	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Materiał próbki*	Osocze, surowica i płyn mózgowo-rdzeniowy (CSF)
Nazwa protokołu	Cellfree500_V5_DSP
Domyślny zestaw ustawień kontrolnych badania	ACS_Cellfree500_V5_DSP_default_IC
Możliwość dostosowania	Objętość eluatu: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Wymagana wersja oprogramowania	Wersja 4.0 lub wyższa

Dodatkowe informacje znajdują się w części „Przygotowanie materiału próbki” i „Ograniczenia”, strona 5.

Szuflada „Sample” (Próbka)

Typ próbki	Osocze, surowica i płyn mózgowo-rdzeniowy (CSF)
Objętość próbki	Zależy od typu używanej próbki; więcej informacji znajduje się na stronie www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Próbki pierwotne	Więcej informacji znajduje się na stronie www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
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
Inne	Wymagana mieszanina nośnik RNA–bufor AVE; użycie kontroli wewnętrznej jest opcjonalne

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

Pozycja A1 i/lub A2	Kartridż z odczynnikiem (reagent cartridge, RC)
Pozycja B1	nd.
Uchwyt na statyw na końcówki 1–17	Jednorazowe końcówki z filtrem, 200 µl
Uchwyt na statyw na końcówki 1–17	Jednorazowe końcówki z filtrem, 1500 µl
Uchwyt na opakowanie jednostkowe 1–4	Opakowania jednostkowe zawierające kartridże sample prep
Uchwyt na opakowanie jednostkowe 1–4	Opakowania jednostkowe zawierające zamknięcia 8-szyftowe

nd. = nie dotyczy

Szuflada „Waste” (Odpady)

Uchwyt na opakowanie jednostkowe 1–4	Puste opakowania jednostkowe
Uchwyt na worek na odpady	Worek na odpady
Uchwyt na butlę na odpady płynne	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 ^{††}	32	56	80	104
Jednorazowe końcówki z filtrem, 1500 µl ^{††}	109	198	297	386
Kartridże sample prep [§]	21	42	63	84
Zamknięcia 8-szyftowe [¶]	3	6	9	12

* Użycie więcej niż jednej kontroli wewnętrznej na jedną partię oraz przeprowadzenie więcej niż jednego skanowania inwentaryzującego wymaga dodatkowych jednorazowych końcówek z filtrem. 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 odczynnikami.

[§] Opakowanie jednostkowe zawiera 28 kartridży sample prep.

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

Uwaga: W zależności od ustawień, na przykład liczby kontroli wewnętrznych używanych na partię, podane liczby końcówek z filtrem mogą się różnić od liczb wyświetlanych na ekranie dotykowym.

Wybrana objętość elucji

Wybrana objętość elucji (µl)*	Początkowa objętość elucji (µl) [†]
60	90
85	115
110	140

* Objętość elucji wybrana na ekranie dotykowym. Jest to minimalna dostępna objętość eluatu w końcowej próbce elucji.

[†] Początkowa objętość roztworu elucji wymagana do zapewnienia właściwej objętości eluatu, równej wcześniej wybranej wartości.

Przygotowanie mieszaniny kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE)

Wybrana objętość elucji (µl)	Objętość roztworu podstawowego nośnika RNA (CARRIER) (µl)	Objętość kontroli wewnętrznej (µl)*	Objętość buforu AVE (AVE) (µl)	Końcowa objętość na próbkę (µl)
60	5	9	106	120
85	5	11,5	103,5	120
110	5	14	101	120

* Obliczenie ilości kontroli wewnętrznej opiera się na początkowych objętościach elucji. Dodatkowa objętość nieużyteczna zależy od typu użytej próbki; więcej informacji znajduje się na stronie www.qiagen.com/goto/dsphanbooks

Uwaga: Wartości widoczne w tabeli służą do przygotowania mieszaniny kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER) dla dalszej analizy, w której wymagane jest 0,1 µl kontroli wewnętrznej na µl eluatu.

Próbki zawierające mieszaninę kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE) umieszcza się w nośniku próbek. Nośnik próbek zawierający mieszaninę(-ny) kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE) należy umieścić w gnieździe A szuflady „Sample” (Próbka).

W zależności od liczby przetwarzanych próbek zalecamy używanie próbek o pojemności 2 ml (Sarstedt, nr kat. 72.693 lub 72.694) lub próbek polistyrenowych z okrągłym dnem 17 x 100 mm o pojemności 14 ml (Becton Dickinson, nr kat. 352051) w celu rozcieńczenia kontroli wewnętrznej w sposób opisany w poniższej tabeli. Objętość można podzielić na 2 lub więcej próbek.

Obliczanie objętości mieszaniny kontroli wewnętrznej

Typ próbki	Nazwa wyświetlona na ekranie dotykowym aparatu QIAAsymphony	Obliczenie objętości mieszaniny kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE) na próbkę
Mikropróbka 2 ml z wieczkiem; mikropróbka 2 ml, PP, STOŻKOWE DNO W KOŁNIERZU PRZEDŁUŻAJĄCYM (Sarstedt, nr kat. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Mikropróbka 2 ml z wieczkiem; mikropróbka 2 ml, PP, BEZ STOŻKOWEGO DNA W KOŁNIERZU PRZEDŁUŻAJĄCYM (Sarstedt, nr kat. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Próbka 14 ml, 17 x 100 mm polistyrenowa z okrągłym dnem (Becton Dickinson, nr kat. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* To równanie służy do obliczenia wymaganej objętości mieszaniny kontroli wewnętrznej (n = liczba próbek; $120 \mu\text{l}$ = objętość mieszaniny kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE); $360 \mu\text{l}$ = objętość nieużyteczna wymagana na każdą próbkę). Na przykład dla 12 próbek ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Nie napełniać próbki do objętości większej niż 1,9 ml (tj. maksymalnie 12 próbek na próbkę). Jeśli będzie przetwarzanych więcej niż 12 próbek, użyć dodatkowych próbek, upewniając się, że objętość nieużyteczna została dodana do każdej próbki.

† To równanie służy do obliczenia wymaganej objętości mieszaniny kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE) (n = liczba próbek; $120 \mu\text{l}$ = objętość mieszaniny kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE); $600 \mu\text{l}$ = objętość nieużyteczna wymagana na każdą próbkę). Na przykład dla 96 próbek ($n = 96$): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$.

Informacje o wymaganych wkładach znajdują się na stronie www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

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 sheets, SDS) uzyskanymi od producentów poszczególnych produktów.

Próbki osocza, surowicy i płynu mózgowo-rdzeniowego (CSF)

Procedura oczyszczania została zoptymalizowana do użytku z próbkami osocza, surowicy lub płynu mózgowo-rdzeniowego. Do przygotowania osocza można użyć próbek krwi z dodatkiem EDTA lub cytrynianu jako antykoagulantu. Probki mogą być świeże lub zamrożone, pod warunkiem, że nie były zamrażane i rozmrażane więcej niż raz. Po pobraniu i odwirowaniu osocze, surowicę lub płyn mózgowo-rdzeniowy można przechowywać w temperaturze $2-8^\circ\text{C}$ do 6 godzin. W celu długoterminowego przechowywania zalecamy zamrożenie porcji w temperaturze -20°C lub -80°C . Zamrożonych próbek osocza lub surowicy nie wolno rozmrażać więcej niż raz. Wielokrotne zamrażanie i rozmrażanie prowadzi do denaturacji i wytrącania białek, co powoduje zmniejszenie miana wirusów i z tego powodu zmniejszone uzyski wirusowych kwasów nukleinowych. Jeśli w próbkach widoczne są krioprecypitaty, odwirować próbki przy $6800 \times g$ przez 3 minuty, przenieść supernatanty do świeżych próbek, nienaruszając osadów, a następnie niezwłocznie rozpocząć procedurę oczyszczania. Wirowanie przy niskiej sile odśrodkowej g nie zmniejsza miana wirusów.

Ograniczenia

Próbki krwi z dodatkiem aktywatora wykrzepiania surowicy mogą zmniejszać uzysk wirusowych kwasów nukleinowych. Nie używać probówek do pobierania krwi Greiner Bio-One® VACUETTE® z aktywatorem wykrzepiania surowicy.

Historia zmian

Historia zmian dokumentu	
R2 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); BD™ (Becton Dickinson and Company); Falcon® (Corning, Inc.); Bio-One®, VACUETTE® (Greiner Bio-One GmbH); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). 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-0301-S34-002 © 2017 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.

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