

Aralık 2020

QIAsymphony[®] SP Protokol Sayfası

circDNA_2000_DSP_V2 ve
circDNA_4000_DSP_V2

Bu belge, QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit Protokol Sayfası, Versiyon 2, R1'dir

Genel bilgiler

In vitro tanı amaçlı kullanım içindir.

Bu protokol QIASymphony SP ve QIASymphony DSP Circulating DNA Kit kullanarak taze veya donmuş insan plazma ve idrarından insan dolaşan hücre dışı DNA saflaştırılması içindir.

Kit	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (kat. no. 937556)	
Örnek materyali	İnsan plazması: EDTA veya sitrat antikoagülanlı veya ccfDNA stabilize edilmiş İnsan idrarı: stabilize edilmiş veya edilmemiş	
Protokol adı	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
Varsayılan Tahlil Kontrol Seti	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
Elüsyon hacmi	60 µl	60 µl
Gereken yazılım versiyonu	Versiyon 4,0 veya üstü	Versiyon 5.0 veya üstü

"Sample" (Örnek) çekmecesi

Örnek tipi	İnsan plazması (bkz. "Örnek materyalinin hazırlanması") ve İnsan idrarı (stabilize edilmiş veya edilmemiş)
Örnek hacmi	Kullanılan örnek tüpü tipine bağlıdır Daha fazla bilgi için, www.qiagen.com adresindeki ürün sayfasında, kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek laboratuvar gereçleri listesine bakın.
Primer örnek tüpleri	n/a
Sekonder örnek tüpleri	Daha fazla bilgi için, www.qiagen.com adresindeki ürün sayfasında, kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek laboratuvar gereçleri listesine bakın.
İnsertler	n/a
Diğer	Proteinaz K'nın yuva A'ya (pozisyon 1 ve/veya 2) eklenmesi gerekir

n/a = uygulanamaz.

"Sample" (Örnek) çekmecesinde Proteinaz K hazırlanması

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit oda sıcaklığında (15-25°C) saklanabilen kullanıma hazır Proteinaz K solüsyonu içerir.

Not: Proteinaz K içeren tüpler bir tüp taşıyıcıya yerleştirilir. Proteinaz K içeren tüpler "Sample" (Örnek) çekmecesinde, yuva A içinde pozisyon 1 ve/veya 2 içine yerleştirilmelidir. Gerekli tüp tipi için www.qiagen.com adresindeki ürün sayfasında, kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek laboratuvar gereçleri listesine bakın.

Örnek sayısı*	circDNA_2000_DSP	circDNA_4000_DSP
8	1980 µl	2860 µl
24	3740 µl	6380 µl
48	6380 µl	11,660 µl
72	9020 µl	18,040 µl†
96	11,660 µl	23,320 µl†

* Her örneğe yönelik olarak, circDNA_2000_DSP için 110 µl veya circDNA_4000_DSP için 220 µl gereklidir ve ayrıca 1100 µl ek boşluk hacmi gerekir [(n x 110 veya 220 µl) + 1100 µl].

† circDNA_4000_DSP için: 48 adetten fazla örnek işleniyorsa ikinci bir tüp kullanın. Tüp başına maksimum yükleme hacmi 11,660 µl'dir. İkinci tüp için 1100 µl ek boşluk hacmi gereklidir.

"Reagents and Consumables" (Reaktifler ve Sarf Malzemeleri) çekmecesi

Pozisyon A1 ve/veya A2	Reaktif kartuşu
Pozisyon B1	n/a
Uç askı tutucu 1-18	Tek kullanımlık filtre uçları, 200 µl veya 1500 µl
Ünite kutusu tutucu 1-4	Örnek hazırlama kartuşları veya 8-Rod Covers içeren ünite kutuları

n/a = uygulanamaz.

"Waste" (Atık) çekmecesi

Ünite kutusu tutucu 1-4	Boş ünite kutuları
Atık torbası tutucu	Atık torbası
Sıvı atık şişesi tutucu	Boş sıvı atık şişesi

"Eluate" (Elüat) çekmecesi

Elüsyon askısı (yuva 1, soğutma pozisyonu kullanılması önerilir)	Daha fazla bilgi için, www.qiagen.com adresindeki ürün sayfasında, kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek laboratuvar gereçleri listesine bakın.
---	---

Gerekli plastik gereçler

Protokol circDNA_2000_DSP

Plastik gereçler	Bir grup 24 örnek*	İki grup 48 örnek*	Üç grup 72 örnek*	Dört grup 96 örnek*
Tek kullanımlık filtre uçları, 200 µl†	28	56	84	112
Tek kullanımlık filtre uçları, 1500 µl†	56	112	168	224
Örnek hazırlama kartuşları§	15	30	45	60
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Grup başına 24'ten az örnek kullanılması çalışma başına gereken tek kullanımlık filtre ucu sayısını azaltır.

† Filtre ucu askısı başına 32 filtre ucu vardır.

‡ Gereken filtre ucu sayısına reaktif kartuşu başına 1 envanter taraması için filtre uçları dahildir.

§ Ünite kutusu başına 28 örnek hazırlama kartuşu vardır.

¶ Ünite kutusu başına on iki 8-Rod Covers vardır.

Protokol circDNA_4000_DSP

Plastik gereçler	Bir grup 24 örnek*	İki grup 48 örnek*	Üç grup 72 örnek*	Dört grup 96 örnek*
Tek kullanımlık filtre uçları, 200 µl†‡	28	56	84	112
Tek kullanımlık filtre uçları, 1500 µl†‡	96	192	288	384
Örnek hazırlama kartuşları§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Grup başına 24'ten az örnek kullanılması çalışma başına gereken tek kullanımlık filtre ucu sayısını azaltır.

† Filtre ucu askısı başına 32 filtre ucu vardır.

‡ Gereken filtre ucu sayısına reaktif kartuşu başına 1 envanter taraması için filtre uçları dahildir.

§ Ünite kutusu başına 28 örnek hazırlama kartuşu vardır.

¶ Ünite kutusu başına on iki 8-Rod Covers vardır.

Not: Verilen filtre ucu sayısı ayarlara bağlı olarak dokunmalı ekranda gösterilen rakamlardan farklı olabilir. Mümkün olan maksimum uç sayısının yüklenmesi önerilir.

Elüsyon hacmi

Seçili elüsyon hacmi	Başlangıç elüsyon hacmi
60 µl	75 µl

Elüsyon hacmi dokunmalı ekranda seçilir. Ortalama kullanılabilir elüsyon hacmi ≥ 60 µl'dir. Ayrı durumlarda tek örnekler için son elüat hacmi seçilen hacimden 5 µl'ye kadar daha az olabilir (örn., 55 µl). Aktarma öncesinde elüat hacmini doğrulamayan bir otomatik tahlil kurulumu sistemi kullanılırken fiili elüat hacmini kontrol etmek önerilir.

Elüatların Saklanması

Çalışma biter bitmez elüat plakasını "Eluate" (Elüat) çekmecesinden alma önerilir. Elüsyon plakaları çalışma tamamlandıktan sonra gece boyunca QIASymphony SP içinde bırakılabilir (çalışma süresi dahil maksimum 16 saat; önerilen çevre koşulları: 18-26°C ve %20-75 bağıl nem). Sıcaklık ve neme bağlı olarak elüatta kondansasyon veya buharlaşma olabilir.

Örnek hazırlamadan sonra elüatlar, 1 aya kadar 2-8°C'de saklanabilir. Uzun dönemli saklama için elüatlar -30 ila -15°C veya -90 ila -65°C'de saklanabilir. Donmuş elüatlar 3 kezden fazla çözülmemelidir.

Örnek materyalinin hazırlanması

Kimyasallarla çalışırken, daima uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için, ürün tedarikçisinden elde edilebilecek uygun güvenlik veri sayfalarına (Safety Data Sheets, SDS'ler) başvurun.

Başlamadan önce önemli noktalar

- Örnekler içinde veya üzerinde köpük oluşmasını engelleyin.
- Çalışmaya başlamadan önce örnekler oda sıcaklığına (15-25°C) dengelenmelidir.

İnsan plazması

Antikoagülan olarak EDTA veya sitratla muamele edilmiş kan örnekleri plazma hazırlanması için kullanılabilir. ccfDNA stabilize edilmiş kan toplama tüplerinden toplanan plazma da kullanılabilir. Plazma, üreticinin belirlediği şekilde oluşturulur.

Antikoagülan olarak EDTA veya sitrat kullanırken plazma ayırmayı kan alınmasından hemen sonra yapmak önerilir.

Belirli aşağı doğru uygulamalar için veziküllerden nükleik asitleri hariç tutmak veya en aza indirmek gerekebilir. Bu gibi durumlarda, başlangıçta plazma oluşturulduktan sonra oda sıcaklığında (15-25°C) 10 dakika boyunca 16.000 x g hızında bir yüksek hızlı santrifügasyon adımı gerçekleştirilmesi önerilir.

Toplandıktan ve santrifügasyondan sonra plazma oda sıcaklığında 7 güne kadar ve 2-8°C'de 14 güne kadar saklanabilir. Daha uzun süre saklama için alikotları -20°C veya -80°C'de dondurmak önerilir. Donmuş plazma 3 kezden fazla çözülmemelidir. Tekrarlanan dondurma-çözme proteinlerin denatürasyon ve presipitasyonuna yol açar ve sonuçta daha düşük dolaşan hücre dışı nükleik asit verimiyle sonuçlanabilir. Örneklerde kriyopresipitatlar görünüyorsa oda sıcaklığında (15-25°C) 6.800 x g hızında 3 dakika santrifüje edin ve süpernatantları, peletleri bozmadan sekonder bir örnek tüpüne aktarın (www.qiagen.com adresindeki ürün sayfasında, kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek laboratuvar gereçleri listesine bakın). Safaştırma işlemi hemen başlatın.

İnsan idrarı

İdrar toplamadan sonra dolaşan hücre dışı DNA'nın hızla bozulması nedeniyle idrar örneklerini hemen stabilize etmek kuvvetle önerilir.

Stabilize edilmiş insan idrarı

Stabilize edilmiş idrar oda sıcaklığında (15-25°C) veya 2-8°C'de 7 güne kadar saklanabilir. Daha uzun süre saklama için alikotları -30 ila -15°C veya -90 ila -65°C'de dondurmak önerilir.

Stabilize edilmiş idrar örnekleri için örnek ön muamelesi gerekmez. Stabilizasyon sonrasında, dolaşan hücre dışı DNA'nın ekstraksiyonu öncesinde hücreleri gidermek için idrar örneklerini oda sıcaklığında (15-25°C) 10 dakika boyunca düşük hızda (1900 x g) santrifüje etmek önerilir. Santrifügasyondan sonra süpernatantlarda çökeltiler görülüyorsa çökeltileri çözmek için örnekleri bir su banyosunda 25°C'ye ısıtın. Bir çalışmaya başlamadan önce stabilize edilmiş idrar örneklerini sekonder bir örnek tüpüne aktarın ve sonra bu tüpü örnek taşıyıcıya yükleyin (www.qiagen.com adresindeki ürün sayfasında, kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek laboratuvar gereçleri listesine bakın).

"Stabilize edilmemiş" insan idrarı

Buffer ATL gereken bir protokole başlamadan önce Buffer ATL içinde çökelti oluşup oluşmadığını kontrol edin. Gerekirse, bir su banyosunda hafifçe sallayarak 70°C'de ısıtma yoluyla çözün. Buffer ATL yüzeyinden kabarcıkları aspire edin.

Not: Buffer ATL (Buffer ATL, 4 x 50 ml, kat. no. 939016) QIASymphony DSP Circulating DNA Kit'in bir parçası değildir ve ayrı sipariş edilmelidir.

İdrar örneklerini hücreleri gidermek için toplanmalarından hemen sonra oda sıcaklığında (15-25°C) 10 dakika boyunca düşük hızda (1900 x g) santrifüje etmek önerilir. Stabilize edilmemiş idrar örnekleri için örnek ön muamelesi gerekir.

Önemli: Ön muameleye başlamadan önce örnekleri oda sıcaklığına (15-25°C) dengeleyin.

Önemli: Santrifügasyon ve ön muamele idrar örneği toplanmasından sonraki 4 saat içinde yapılmalıdır.

- 2500 µl idrarı (circDNA_2000_DSP) veya 4500 µl idrarı (circDNA_4000_DSP) sırasıyla 250 µl veya 450 µl Buffer ATL ile karıştırın.
- Örnekleri 1 saat boyunca oda sıcaklığında (15-25°C) inkübe edin.
- Örnekleri 1900 x g hızında oda sıcaklığında (15-25°C) 10 dakika boyunca santrifüje edin. Santrifügasyondan sonra süpernatanda çökeltiler görülüyorsa çökeltileri çözmek için örnekleri bir su banyosunda 25°C'ye ısıtın.
- Aktarılan süpernatanı sekonder bir örnek tüpüne aktarın ve sonra bu tüpü örnek taşıyıcıya yükleyin (www.qiagen.com adresindeki ürün sayfasında, kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek laboratuvar gereçleri listesine bakın)

Önemli: Stabilize edilmemiş idrarda, dolaşan hücre dışı DNA'nın stabilitesi ve bütünlüğü sınırlıdır. İdrar örneklerinin cihaz üzerinde kaldığı süreyi en aza indirmek için QIASymphony çalışması başına en fazla 24 örneklilik bir grup yüklemek önerilir.

Olumsuz etkileyen maddeler

Yüksek gamma-globulin konsantrasyonları (>30 g/l) olan plazma örnekleri dolaşan hücre dışı DNA'nın daha az geri kazanılmasına yol açabilir.

Revizyon GemiŖi

Tarih	DeęiŖiklikler
Versiyon 2, R1 Aralık 2020	İlk sŖrŖm.

GŖncel lisans bilgileri ve ŖrŖne ŖzgŖ yasal uyarılar için ilgili QIAGEN kiti el kitabına veya kullanım kılavuzuna bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servislerinden veya yerel distribŖtŖrŖnŖzden istenebilir.

Ticari markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Bu belgede geçen tescilli adlar, ticari markalar vb. açıkça bu Ŗekilde belirtilmemiŖ olsa bile yasalarda korunmaktadır.

12/2020 HB-2309-S02-001 © 2020 QIAGEN, tŖm hakları saklıdır.

Sipariş www.qiagen.com/shop | Teknik Destek support.qiagen.com | Web Sitesi www.qiagen.com