

2020. december

QIA Symphony[®] SP protokoll lap

circDNA_2000_DSP_V2 és
circDNA_4000_DSP_V2

Jelen dokumentum a QIA Symphony DSP Circulating DNA Kit készlethez tartozó protokoll lap 2. verziójának R1 kiadása.

Általános információk

In vitro diagnosztikai használatra.

Ez a protokoll a friss vagy fagyasztott humán plazmából vagy vizeletből származó humán cirkuláló, sejtmentes DNS megtisztítására szolgál QIASymphony SP készülék és QIASymphony DSP Circulating DNA Kit alkalmazásával.

Kit	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (katalógusszám: 937556)	
Mintaanyag	Humán plazma: EDTA-val vagy citráttal antikoagulált, vagy ccfdNA-stabilizált Humán vizelet: nem stabilizált vagy stabilizált	
Protokoll neve	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
Alapértelmezett assay-kontrollkészlet	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
Elúciós térfogat	60 µl	60 µl
Szükséges szoftververzió	4.0-s vagy későbbi verzió	5.0-s vagy későbbi verzió

„Sample” (Minta) fiók

Mintatípus	Humán plazma (lásd „A mintaanyag előkészítése”) és Humán vizelet (stabilizált vagy nem stabilizált)
Mintatérfogat	A használt mintacső típusától függ További információkat lásd a laborszakosítók listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.
Elsődleges mintacsövek	n.a.
Másodlagos mintacsövek	További információkat lásd a laborszakosítók listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.
Inzertek	n.a.
Egyéb	Proteináz K-t kell adni az „A” nyílásban (az 1-es és/vagy 2-es pozícióba)

n.a. = nem alkalmazható.

A proteináz K előkészítése a „Sample” (Minta) fiókban

A QIASymphony DSP Circulating DNA Kit használatra kész, szobahőmérsékleten (15–25 °C) tárolható proteináz K oldatot tartalmaz.

Megjegyzés: A proteináz K-t tartalmazó csöveket csőtartóba kell helyezni. A proteináz K-t tartalmazó csöve(ke)t a „Sample” (Minta) fiók „A” nyílásában az 1-es és/vagy 2-es pozícióba kell helyezni. Az előírt csőtípust lásd a laborszakosítók listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.

Mintaszám*	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†

* A circDNA_2000_DSP esetében mintánként 110 µl térfogatra, a circDNA_4000_DSP esetében mintánként 220 µl térfogatra van szükség, valamint további 1100 µl holtterfogatra [(n x 110 vagy 220 µl) + 1100 µl].

† A circDNA_4000_DSP esetében: Ha több mint 48 mintát dolgoz fel, használjon egy második csövet. A csövek maximális töltési térfogata egyenként 11 660 µl. A második csőnél további 1100 µl holtterfogatra van szükség.

„Reagents and Consumables” (Reagensok és fogyóeszközök) fiók

A1 és/vagy A2 pozíció	Reagenskazetta
B1 pozíció	n.a.
Hegyalvány-tartó, 1–18.	Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 200 µl vagy 1500 µl
1–4. számú egységdoboz-tartó	Minta-előkészítő kazettákat vagy 8-Rod Covers rúdburkolatokat tartalmazó egységdobozok

n.a. = nem alkalmazható.

„Waste” (Hulladék) fiók

1–4. számú egységdoboz-tartó	Üres egységdobozok
Hulladékgyűjtő zsák tartója	Hulladékgyűjtő zsák
Folyékonyhulladék-gyűjtő palack tartója	Üres folyékonyhulladék-gyűjtő palack

„Eluate” (Eluátum) fiók

Elúciós állvány (az 1. nyílás, hűtő pozíció alkalmazása javasolt)	További információkat lásd a laboreszközök listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.
--	--

Szükséges műanyag eszközök

Protokoll: circDNA_2000_DSP

Műanyag eszköz	Egy mintasorozat, 24 minta*	Két mintasorozat, 48 minta*	Három mintasorozat, 72 minta*	Négy mintasorozat, 96 minta*
Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 200 µl†‡	28	56	84	112
Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 1500 µl†‡	56	112	168	224
Minta-előkészítő kazetták§	15	30	45	60
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Ha mintasorozatanként 24-nél kevesebb mintát használ, csökken a futtatásonként szükséges egyszer használatos, szűrős pipettahegyek száma.

† Egy hegytartó állványon 32 darab szűrős pipettahegy van.

‡ Szűrős pipettahegyek száma reagenskazettánként, az 1 leltárellenőrzéshez szükséges szűrővel ellátott hegyeket is beleszámítva.

§ Egy egységdoboz 28 minta-előkészítő kazettát tartalmaz.

¶ Egy egységdoboz tizenkét 8-Rod Covers rúdburkolatot tartalmaz.

Protokoll: circDNA_4000_DSP

Műanyag eszköz	Egy mintasorozat, 24 minta*	Két mintasorozat, 48 minta*	Három mintasorozat, 72 minta*	Négy mintasorozat, 96 minta*
Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 200 µl†‡	28	56	84	112
Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 1500 µl†‡	96	192	288	384
Minta-előkészítő kazetták§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Ha mintasorozatanként 24-nél kevesebb mintát használ, csökken a futtatásonként szükséges egyszer használatos, szűrős pipettahegyek száma.

† Egy hegytartó állványon 32 darab szűrős pipettahegy van.

‡ Szűrős pipettahegyek száma reagenskazettánként, az 1 leltárellenőrzéshez szükséges szűrővel ellátott hegyeket is beleszámítva.

§ Egy egységdoboz 28 minta-előkészítő kazettát tartalmaz.

¶ Egy egységdoboz tizenkét 8-Rod Covers rúdburkolatot tartalmaz.

Megjegyzés: A beállítások függvényében a szűrővel rendelkező hegyek megadott száma eltérhet az érintőképernyőn megjelenített számoktól. A lehető legnagyobb számú hegy betöltése javasolt.

Elúciós térfogat

Kiválasztott elúciós térfogat	Kezdeti elúciós térfogat
60 µl	75 µl

Az elúciós térfogat ki van választva az érintőképernyőn. Az átlagos elérhető elúciós térfogat ≥ 60 µl. Egyéni esetekben az egyes mintákhoz tartozó eluátum végső térfogata akár 5 µl-rel kevesebb lehet a kiválasztott térfogatnál (pl. 55 µl). Az eluátum térfogatát nem ellenőrző automata assay-beállítási rendszer alkalmazása esetén az átvitel előtt javasolt az eluátum tényleges térfogatának ellenőrzése.

Az eluátumok tárolása

A futtatás befejeződését követően javasolt haladéktalanul kivenni az eluátumlemezt az „Eluate” (Eluátum) fiókból. Az elúciós lemezek a QIASymphony SP készülékben hagyhatók, miután éjszaka befejeződött a futtatás (legfeljebb 16 óra, beleértve a futtatási időt; javasolt környezeti feltételek: 18–26 °C hőmérséklet és 20–75% relatív páratartalom). A hőmérséklettől és a páratartalomtól függően páralecsapódás vagy párolgás fordulhat elő az eluátumban.

Minta-előkészítés után az eluátumok 2–8 °C közötti hőmérsékleten legfeljebb 1 hónapig tárolhatók. Hosszú távú tárolás esetén –30 és –15 °C közötti vagy –90 és –65 °C közötti hőmérséklet javasolt. A lefagyasztott eluátumokat legfeljebb 3-szor szabad kiolvasztani.

A mintaanyag előkészítése

Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információk a megfelelő biztonsági adatlapokon (Safety Data Sheets, SDS-ek) találhatóak, amelyek az adott termék gyártójától szerezhetők be.

A kezdés előtt figyelembe veendő fontos szempontok

- Kerülje a habképződést a mintákban vagy a mintákon.
- A futtatás megkezdése előtt hagyni kell szobahőmérsékletűre (15–25 °C) melegedni a mintákat.

Humán plazma

A plazma előkészítéséhez antikoagulánsként EDTA-val vagy citráttal kezelt vérminták használhatók. A ccfDNA-stabilizált vérvételi csövekből előkészített plazma is használható. A plazmát a gyártó által előírt módon kell előállítani.

Antikoagulánsként EDTA-t vagy citrátot alkalmazó minták esetében javasolt a véradást követően azonnal elválasztani a plazmát.

Bizonyos további alkalmazások esetében előfordulhat, hogy teljesen el kell távolítani vagy minimálisra kell csökkenteni a vezikulumokból felszabaduló nukleinsavakat. Ilyen esetben javasolt közvetlenül a plazma kezdeti elválasztása után végrehajtani egy nagy sebességű centrifugálást: 16 000 x g, 10 perc, szobahőmérséklet (15–25 °C).

Levétel és centrifugálást követően a plazma szobahőmérsékleten legfeljebb 7 napig, 2–8 °C-on pedig legfeljebb 14 napig tárolható. Hosszú távú tárolás esetén javasolt az alikvotok lefagyasztása –20 °C-on vagy –80 °C-on. A lefagyasztott plazmát legfeljebb 3-szor szabad kiolvasztani. Az ismételt fagyasztási-kiolvasztási ciklusok a fehérjék denaturálódásához és kicsapódásához vezetnek, és ezáltal csökkenthetik a cirkuláló, sejtmentes nukleinsavak hozamát. Ha a mintákban fagyási csapadékok láthatók, centrifugálja le (6800 x g) 3 percig szobahőmérsékleten (15–25 °C), majd a pellet megérintése/szétosztatása nélkül vigye át a felülúszót egy másodlagos mintacsőbe (lásd a laboesszközök listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapjúlén érhető el). Azonnal kezdje el a tisztítási eljárást.

Humán vizelet

Mivel a vizeletminta vétele után gyorsan lebomlik a keringő, sejtmentes DNS, hangsúlyozottan javasolt a vizeletminták azonnali stabilizálása.

Humán vizelet: stabilizált

A stabilizált vizelet szobahőmérsékleten (15–25 °C) vagy 2–8 °C-on legfeljebb 7 napig tárolható. Hosszú távú tárolás esetén javasolt az alikvotok lefagyasztása –30 és –15 °C közötti vagy –90 és –65 °C közötti hőmérsékleten.

Stabilizált vizeletminták esetében nincs szükség előkezelésre. A stabilizálás után és a cirkuláló, sejtmentes DNS extrakciója előtt javasolt a vizeletminták alacsony sebességű centrifugálása (1900 x g, 10 perc, szobahőmérséklet (15-25 °C)) a sejtek eltávolítása céljából. Ha centrifugálás után csapadék látható a felülúszókban, helyezze a mintákat 25 °C-os vízfürdőbe a csapadék feloldása céljából. Futtatás elindítása előtt vigye át a stabilizált vizeletmintákat másodlagos mintacsövekbe, és ezeket helyezze a mintatartókba (lásd a laboreshozók listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapjában érhető el).

Humán vizelet: nem stabilizált

Mielőtt olyan protokollt kezd el, amihez Buffer ATL pufferre van szükség, ellenőrizze, hogy nem képződött-e csapadék a Buffer ATL pufferben. Szükség esetén oldja fel a csapadékot vízfürdőben való felmelegítéssel 70 °C-on, enyhe kevergetés mellett. Szívja le a buborékokat a Buffer ATL felszínéről.

Megjegyzés: A Buffer ATL (Buffer ATL, 4 x 50 ml, katalógusszám: 939016) nem része a QIASymphony DSP Circulating DNA Kit készletnek, külön kell megrendelni.

Közvetlenül a mintavétel után javasolt a vizeletminták alacsony sebességű centrifugálása (1900 x g, 10 perc, szobahőmérséklet (15–25 °C)) a sejtek eltávolítása céljából. A nem stabilizált vizeletminták előkezelést igényelnek.

Fontos: Az előkezelés elindítása előtt ekvilibrálja a mintákat szobahőmérsékletre (15–25 °C).

Fontos: A centrifugálást és az előkezelést a vizeletminta vételétől számított 4 órán belül el kell végezni.

- Keverjen össze 2500 µl vizeletet (circDNA_2000_DSP) vagy 4500 µl vizeletet (circDNA_4000_DSP) 250 µl vagy 450 µl Buffer ATL pufferrel.
- Inkubálja a mintákat szobahőmérsékleten (15–25 °C) 1 óráig.
- Centrifugálja (1900 x g) a mintákat 10 percig szobahőmérsékleten (15–25 °C).

Ha centrifugálás után csapadék látható a felülúszóban, helyezze a mintákat 25 °C-os vízfürdőbe a csapadék feloldása céljából.

- Vigye át a felülúszókat másodlagos mintacsövekbe, és ezeket helyezze a mintatartókba (lásd a laboreszközök listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapfülén érhető el)

Fontos: Nem stabilizált vizeletben korlátozott a cirkuláló, sejtmentes DNS stabilitása és integritása. Annak érdekében, hogy a vizeletminták csak a szigorúan szükséges időt töltsék a készülékben, QIASymphony futtatásonként legfeljebb 24 mintából álló sorozat betöltése javasolt.

Zavaró anyagok

Nagy koncentrációjú gamma-globulint (> 30 g/l) tartalmazó plazmaminták esetén előfordulhat, hogy a vártnál kevesebb lesz a cirkuláló, sejtmentes DNS hozama.

Átdolgozási előzmények

Dátum	Módosítások
2. verzió, R1 2020. december	Első kiadás.

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN kit kézikönyvében vagy felhasználói kézikönyvében található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói kézikönyvei a www.qiagen.com webhelyen érhetők el, illetve a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálattól vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

Védjegyek: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN csoport). A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvényi védelemen kívül esőnek, ha nem rendelkeznek külön jelöléssel.

12/2020 HB-2309-S02-001 © 2020 QIAGEN, minden jog fenntartva.

Rendelés: www.qiagen.com/shop | Műszaki támogatás: support.qiagen.com | Webhely: www.qiagen.com