

Mart 2017

QIAsymphony® DSP Dolaşan DNA Kiti Kullanma Talimatı (El Kitabı)



192

Versiyon 1



İn vitro diagnostik kullanım için



937556



QIAGEN GmbH,
QIAGEN Strasse 1,
40724 Hilden
ALMANYA



1103177TR

İçindekiler

Kullanım Amacı	3
Özet ve Açıklama.....	3
İşlemin Prensipleri	4
Sağlanan Materyal.....	6
Kit içeriği	6
Gereken ama Sağlanmayan Materyal	7
Uyarılar ve Önlemler.....	8
Reaktif Saklama ve Muamele.....	10
Kit bileşenleri	10
Numune Toplama ve Hazırlama	11
İşlem	12
QIASymphony SP ile otomatik saflaştırma	12
Protokol: Dolaşan hücre dışı DNA'nın saflaştırılması	18
Kalite Kontrol.....	21
Sınırlamalar.....	21
Semboller	22
Sorun Giderme Kılavuzu.....	24
Ek: Dolaşan hücre dışı DNA kantitasyonu.....	28
Sipariş Bilgisi	29

Kullanım Amacı

QIASymphony DSP Dolaşan DNA Kiti biyolojik numunelerden insan dolaşan hücre dışı DNA'sının otomatik olarak izolasyonu ve saflaştırılması için manyetik partikül teknolojisi kullanır.

Ürünün moleküler biyoloji teknikleri konusunda eğitilmiş teknisyenler ve doktorlar gibi profesyonel kullanıcılar tarafından kullanılması amaçlanmıştır.

QIASymphony DSP Dolaşan DNA Kitinin in vitro diagnostik kullanım için olması amaçlanmıştır.

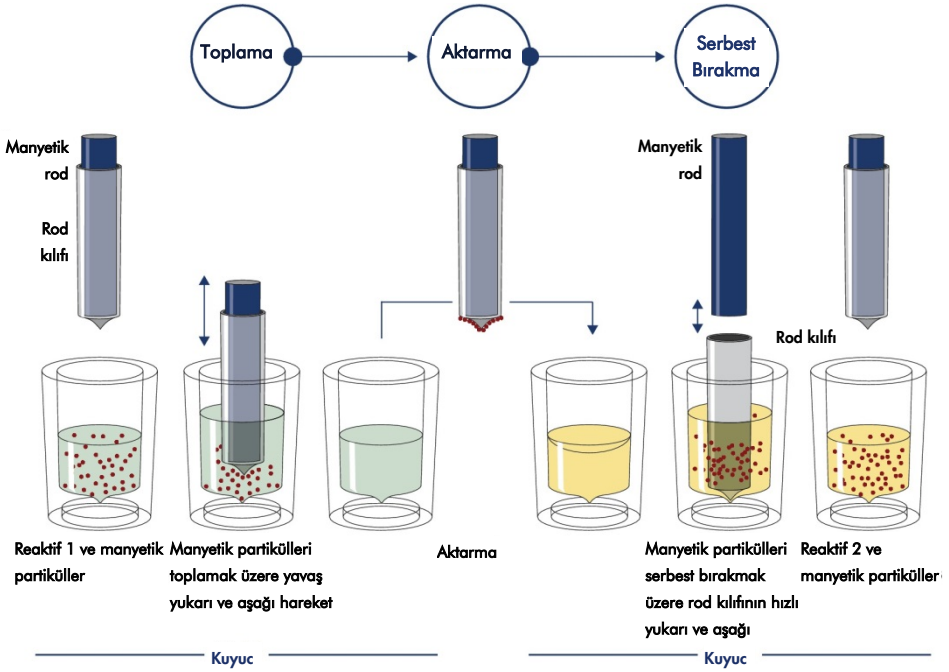
Özet ve Açıklama

Dolaşan hücre dışı nükleik asitler (ccfDNA'lar) plazma veya idrarda genellikle <1000 bp (DNA) <1000 nt (RNA) veya hatta 20 nt değerine kadar küçüklükte (miRNA'lar) kısa parçalar halinde bulunur. Dolaşan hücre dışı nükleik asitlerin plazma veya idrar gibi biyolojik sıvılardaki konsantrasyonu genellikle düşüktür ve kişiler arasında çok farklılık gösterir. ccfDNA için konsantrasyon 1–100 ng/ml aralığında olabilir. QIASymphony DSP dolaşan DNA sistemi QIASymphony SP cihazı kullanılarak insan plazma ve idrarından insan dolaşan hücre dışı DNA'sının kalitatif saflaştırılması için kullanıma hazır bir in vitro sistem oluşturur.

QIASymphony DSP Dolaşan DNA Kiti biyolojik numunelerden insan ccfDNA'sının tam otomatik ve eşzamanlı saflaştırılması için reaktifler sağlar. Her kan toplama tüpü için bir performans özelliği belirlenmemiştir ve kullanıcı tarafından doğrulanması gerekir. Manyetik partikül teknolojisi proteinler, nükleazlar ve diğer saf olmayan kısımlar içermeyen yüksek kalitede nükleik asitler saflaştırmayı mümkün kılar. Saflaştırılmış ccfDNA çok çeşitli aşağı doğru uygulamalarla uyumludur. QIASymphony SP saflaştırma işleminin tüm adımlarını gerçekleştirir. Tek bir çalışmada 24'lük gruplar halinde 96 adede kadar örnek işlenir. İdrar örnekleri için manuel örnek ön muamelesi gerekebilir.

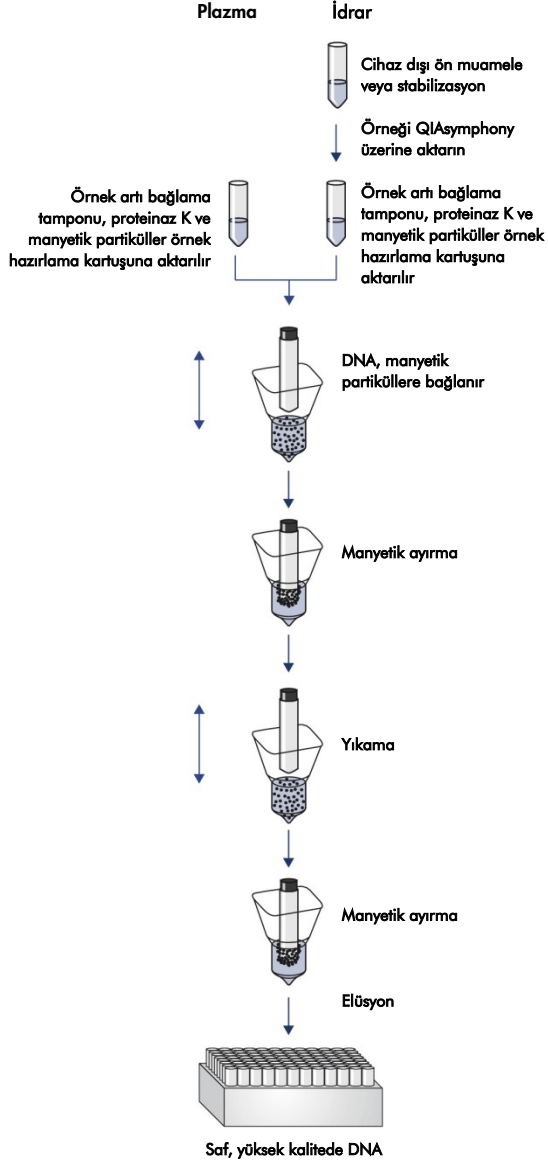
İşlemin Prensipleri

QIAsymphony teknolojisi anyon değişimi tabanlı nükleik asit saflaştırmanın hızı ve etkinliğini manyetik partiküllerin kullanım kolaylığıyla birleştirir (aşağıda Şekil 1). Saflaştırma işlemi enfeksiyöz olabilecek örneklerin güvenli ve tekrar üretilebilir bir şekilde muamelesini sağlamak üzere tasarlanmıştır ve şu 3 adımdan oluşur: bağlama, yıkama ve elüsyon (bakınız akış şeması, sayfa 5). Kullanıcı farklı örnek giriş hacimleri arasında seçim yapabilir.



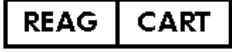
Şekil 1. QIAsymphony SP prensibinin şematik diagramı. QIAsymphony SP manyetik partiküller içeren bir örneği aşağıdaki şekilde işler: Bir rod kılıfı tarafından korunan bir manyetik rod, örneği içeren bir kuyucuğa girer ve manyetik partikülleri kendisine çeker. Manyetik rod, kılıfı başka bir kuyucuk üzerinde konumlandırılır ve manyetik partiküller serbest bırakılır. Örnek işleme sırasında bu adımlar birkaç kez tekrarlanır. QIAsymphony SP, 24 manyetik rod dizisi içeren bir manyetik kafa kullanır ve böylece 24 adede kadar örneği eşzamanlı olarak işleyebilir.

QIAsymphony DSP Dolaşan DNA İşlemi



Sağlanan Materyal

Kit içeriği

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit		(192)
Katalog numarası		937556
Reaksiyon sayısı		192
Kimlik		Adet
RC	Reagent cartridge (Reaktif kartuşu)*	 †
PROTK	QIAGEN Proteinase K (Proteinaz K)	6 x 10 ml
PL	Piercing lid (Delme kapağı)	2
RSS	Reuse Seal Set (Tekrar Kullanılabilir Mühürleme Seti)‡	2
	Kullanma Talimatı (El Kitabı)	1

* Koruyucu madde olarak sodyum azit içerir.

† Sembol listeleri ve tanımlar için bakınız sayfa 22.

‡ Bir Tekrar Kullanılabilir Mühürleme Seti 8 Tekrar Kullanılabilir Mühürleme Stripi içerir.

Gereken ama Sağlanmayan Materyal

Kimyasallarla çalışırken daima uygun bir laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldivenler ve koruyucu gözlükler kullanın. Daha fazla bilgi için lütfen ürün tedarikçisinin sağlayacağı uygun güvenlik veri sayfalarına (SDS'ler) başvurun.

Cihazların üreticinin önerilerine göre kontrol edildiği ve kalibre edildiğinden emin olun.

- QIASymphony SP (kat.no. 9001297)
- Örnek Hazırlama Kartuşları, 8 kuyucuklu kartuşlar (kat. no. 997002)
- 8-Rod Covers (8 Rod Kılıfları) (kat. no. 997004)
- Filter-Tips (Filtre Uçları), 200 μ l ve 1500 μ l (kat. no. 990332 ve 997024)
- Örnek tüpleri. Uyumlu primer ve sekonder tüp formatları için www.qiagen.com adresinde ürün sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek laboratuvar gereçleri listesine bakınız.
- Elüsyon tüpleri veya plakaları. Uyumlu elüsyon tüpü ve plaka formatları için www.qiagen.com adresinde ürün sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek laboratuvar gereçleri listesine bakınız.
- Fosfat tamponlu salin (PBS, örnek hacimlerini tamamlamak için gerekebilir)
- Vorteksleyici
- Tampon ATL (idrar örneklerinin ön muamelesi için; kat. no. 939016)
- İdrar örneklerinin ön muamelesi ve stabilizasyonu için gerekli ek materyaller için lütfen www.qiagen.com adresinde ürün sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek protokol sayfasına bakınız.

Uyarılar ve Önlemler

İn vitro diagnostik kullanım için

Kiti kullanmadan önce tüm talimatı dikkatle okuyun.

Kimyasallarla çalışırken daima uygun bir laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldivenler ve koruyucu gözlükler kullanın. Daha fazla bilgi için, lütfen uygun güvenlik veri sayfalarına (SDS'ler) başvurun. Bunlar çevrim içi olarak PDF halinde www.qiagen.com/safety adresinde yer almaktadır ve burada her QIAGEN kiti ve kit bileşeni için SDS'yi bulabilir, okuyabilir ve yazdırabilirsiniz.

UYARI



Kişisel yaralanma riski

Örnek hazırlama atığına doğrudan çamaşır suyu veya asidik solüsyonlar eklemeyin.

Reaktif kartuşundaki (RC) tamponlar sodyum azit içerir. Kitteki tamponlar dökülürse uygun laboratuvar deterjanı ve suyla temizleyin. Dökülen sıvı enfeksiyöz olabilecek ajanlar içeriyorsa etkilenmiş bölgeyi önce laboratuvar deterjanı ve suyla ve sonra %1 (h/h) sodyum hipokloritle temizleyin.

Aşağıdaki tehlike ve önleyici ifadeler QIASymphony DSP Dolaşan DNA Kitinin bileşenleri için geçerlidir.

MBS3

İçindekiler: Sodyum azit. Uyarı! Yutulursa zararlı olabilir. Kendiniz iyi hissetmezseniz bir ZEHİR MERKEZİ veya doktoru arayın.

Proteinaz K



İçindekiler: Proteinaz K. Tehlike! Hafif cilt tahrişine neden olur. Solunursa alerji veya astım belirtileri veya solunum zorluklarına neden olabilir. Tozu/buğuyu/gazı/dumanı/buharı/spreyi solumaktan kaçının. İçeriği/kabı onaylı bir atık atma tesisine atın. Solunum belirtileri yaşıyorsa: Bir ZEHİR MERKEZİ veya doktoru arayın. SOLUNMUŞSA: Solunum zorsa kişiyi temiz havaya çıkarın ve solunum için rahat bir pozisyonda istirahatte tutun. Solunum koruması kullanın.

QSE2



Tehlike! Şiddetli cilt yanıkları ve göz hasarına neden olur. İçeriği/kabı onaylı bir atık atma tesisine atın. GÖZLERDEYSE: Suyla dikkatle birkaç dakika yıkayın. Varsa ve kolaysa kontakt lensleri çıkarın. Yıkamaya devam edin. CİLTTEYSE (veya saçtıysa): Hemen tüm kontamine giysileri çıkarın. Cildi suyla yıkayın/duş alın. Hemen bir ZEHİR MERKEZİ veya doktoru arayın. Kilit altında saklayın. Koruyucu eldivenler/koruyucu giysiler/ göz koruması/yüz koruması kullanın.

QSW9



İçindekiler: etanol. Tehlike! Ciddi göz tahrişine neden olur. Yüksek ölçüde yanıcı sıvı ve buhar. İçeriği/kabı onaylı bir atık atma tesisine atın. Göz tahrişi devam ederse: Tıbbi öneri alın/ yardım isteyin. Isı/kıvılcımlar/açık alevler/sıcak yüzeylerden uzak tutun. - Sigara içmeyin. İyi havalandırılmış bir yerde saklayın. Serin tutun. Koruyucu eldivenler/ koruyucu giysiler/ göz koruması/ yüz koruması kullanın.

Reaktif Saklama ve Muamele

QIASymphony DSP Dolaşan DNA Kiti oda sıcaklığında (15–25°C) dik olarak saklanmalıdır. Reaktif kartuşlarındaki (RC) manyetik partiküller bu sıcaklıkta saklandığında aktif kalır.

Not: QIASymphony DSP Dolaşan DNA Kiti kutusundaki etiket kitin son kullanma tarihini gösterir. Sonuç dosyası sadece reaktif kartuşu (RC) için son kullanma tarihini belgeler.

QIASymphony DSP Dolaşan DNA Kitini son kullanma tarihi geçtikten sonra kullanmayın.

Kit bileşenleri

QIASymphony DSP Dolaşan DNA Kiti oda sıcaklığında saklanabilen kullanıma hazır proteinaz K solüsyonu içerir.

Reaktif kartuşlarını (RC) 15°C altında sıcaklıklarda saklamayın.

Kısmen kullanılmış reaktif kartuşları (RC) maksimum 4 haftaya kadar saklanabilir ve böylece reaktiflerin maliyet etkin tekrar kullanılması ve daha esnek örnek işleme izin verir. Bir reaktif kartuşu (RC) kısmen kullanılmışsa, manyetik partikülleri içeren teknenin kapağını kapatın ve reaktif kartuşunu (RC) protokol çalışması biter bitmez buharlaşmayı önlemek için sağlanan Tekrar Kullanılabilir Mühürleme Stripleri ile mühürleyin.

Reaktif buharlaşmasını önlemek için reaktif kartuşu (RC) maksimum 32°C çevre sıcaklığında maksimum 15 saat (çalışma süreleri dahil) açık olmalıdır. Kit bileşenlerinin hatalı saklanması tamponların daha hızlı eskimesine neden olabilir.

Az örnek sayısına (<24) sahip grupları çalışmak hem reaktif kartuşunun (RC) açık olduğu süreyi hem de gereken tampon hacimlerini arttırarak kartuş başına mümkün olan toplam örnek hazırlama sayısını azaltabilir.

Reaktif kartuşlarının (RC) UV ışığına (örn. dekontaminasyon için kullanılan) maruz kalmasından kaçının çünkü maruz kalma reaktif kartuşları (RC) ve tamponların hızlı eskimesine neden olabilir.

Numune Toplama ve Hazırlama

Otomatik işlem (spesifik protokollerle kullanılacak örnek tüpleri hakkında bilgi dahil) ve spesifik örnek ön muameleleri hakkında daha fazla bilgi için www.qiagen.com adresindeki ürün sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek ilgili protokol sayfasına bakınız.

İşlem

QIAsymphony SP ile otomatik saflaştırma

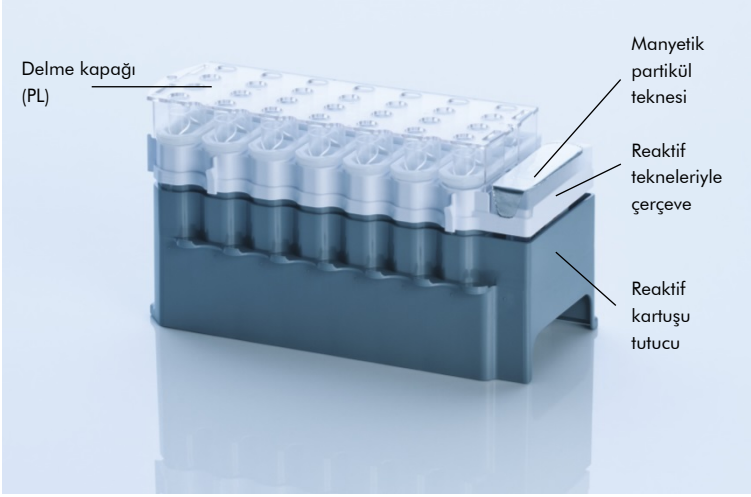
QIAsymphony SP otomatik örnek hazırlamayı kolay hale getirir. Örnekler, reaktifler ve sarflar ve elütler farklı çekmeceler içerisinde ayrılırlar. Örnekleri, özel kartuşlarda sağlanan reaktifleri ve önceden askılanmış sarf malzemesini bir çalışma öncesinde uygun çekmeceye yüklemeniz yeterlidir. Protokolü başlatın ve işleme sonrasında saflaştırılmış DNA'yı "Eluate" (Elüt) çekmecesinden alın. Çalıştırma talimatı için cihazınızla sağlanan kullanım kılavuzlarına başvurun.

Not: Opsiyonel bakım, cihazın çalışması için zorunlu değildir, ancak kontaminasyon riskinin düşürülmesi için önemle tavsiye edilmektedir.

Bu mevcut protokol serisi giderek büyümektedir ve ek QIAGEN protokolleri www.qiagen.com/goto/dsphandbooks adresinden ücretsiz olarak indirilebilir.

"Reagents and Consumables" (Reaktifler ve Sarflar) çekmecesine Reaktif kartuşlarının (RC) yüklenmesi

DNA saflaştırma için reaktifler yenilikçi bir reaktif kartuşunda (RC) bulunur (bakınız Şekil 2, sayfa 13). Reaktif kartuşunun (RC) her teknesi manyetik partiküller, bağlama tamponu, yıkama tamponu veya elüsyon tamponu gibi belirli bir reaktif içerir. Kısmen kullanılmış reaktif kartuşları (RC) daha sonra tekrar kullanılmak üzere Tekrar Kullanılabilir Mühürleme Stripleri (RSS) ile tekrar kapatılabilir ve böylece saflaştırma işleminin sonunda kalan reaktifler nedeniyle atık oluşmasından kaçınılır.



Şekil 2. QIASymphony reaktif kartuşu (RC). Reaktif kartuşu (RC) protokol çalışması için gerekli tüm reaktifleri içerir.

İşleme başlamadan önce manyetik partiküllerin tam olarak tekrar süspansiyon haline getirildiğinden emin olun. Manyetik partikül teknesini reaktif kartuşu çerçevesinden çıkarın, en az 3 dakika kuvvetle vorteksleyin ve sonra ilk kullanımdan önce reaktif kartuşu çerçevesine tekrar yerleştirin.

Not: Manyetik partiküllerin rengi değişebilir. Bunun performans üzerine bir etkisi yoktur.

Reaktif kartuşunu (RC) reaktif kartuşu tutucuya yerleştirin. Bir reaktif kartuşunu (RC) ilk kez kullanmadan önce delme kapağını (PL) reaktif kartuşunun (RC) üstüne yerleştirin (Şekil 2, üst).

Not: Delme kapağı (PL) keskindir. Reaktif kartuşu (RC) üzerine yerleştirirken dikkatli olun. Delme kapağını (PL) reaktif kartuşuna (RC) doğru yönde yerleştirmiş olduğunuzdan emin olun.

Manyetik partikül tekne kapağı çıkarıldıktan sonra reaktif kartuşu (RC) "Reagents and Consumables" çekmecesine yüklenir.

Kısmen kullanılmış reaktif kartuşları (RC) tekrar gerekinceye kadar saklanabilir (bakınız “Reaktif Saklama ve Muamele”, sayfa 10).

Not: Proteinaz K www.qiagen.com adresindeki ürün sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek protokol sayfasında verilen bilgiye göre eklenmelidir.

Not: Reaktif kartuşları, manyetik partikül tekneleri ve Proteinaz K şişelerinin farklı kit lotları arasında birbirleri yerine kullanılmadığından emin olun.

“Reagents and Consumables” çekmecesine plastik malzemenin yüklenmesi

Örnek hazırlama kartuşları, 8 Rod Kılıfları (her ikisi ünite kutularında önceden askılanmış) ve tek kullanımlık filtre uçları (200 µl uçlar mavi askılarda sağlanır, 1500 µl uçlar siyah askılarda sağlanır) “Reagents and Consumables” çekmecesine yüklenir.

Not: Ünite kutularının kapaklarının, ünite kutuları “Reagents and Consumables” çekmecesine yüklenmeden önce çıkarıldığından emin olun.

Not: Uçlarda çapraz kontaminasyonu önlemek için filtreler vardır.

QIASymphony SP çalışma tablası üzerindeki uç askısı yuvaları her iki tipte uç askısıyla doldurulabilir. QIASymphony SP, envanter taraması sırasında yüklenen uçların tipini tanımlayacaktır.

Not: Başka bir protokol çalışmasına başlamadan önce örnek hazırlama kartuşları veya 8 Rod Kılıfları için uç askıları veya ünite kutularını tekrar doldurmayın. QIASymphony SP kısmen kullanılmış uç askıları ve ünite kutuları kullanılabilir.

Gereken sarf malzemesi için www.qiagen.com adresinde ürün sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek ilgili protokol sayfasına bakınız. Plastik malzeme sipariş bilgisi için bakınız sayfa 29.

“Waste” (Atık) çekmecesinin yüklenmesi

Bir çalışma sırasında kullanılan örnek hazırlama kartuşları ve 8 Rod Kılıfları “Waste” çekmecesinde boş ünite kutularında tekrar askılanır. “Waste” çekmecesinde protokol çalışması sırasında oluşan plastik atık için yeterli boş ünite kutusu olduğundan emin olun.

Not: Ünite kutularının kapaklarının ünite kutuları “Waste” çekmecesine yüklenmeden önce çıkarıldığından emin olun. Kullanılan örnek hazırlama kartuşları ve 8 Rod Kılıflarını toplamak için 8 Rod Kılıfları kutuları kullanıyorsanız kutu aralayıcısının çıkarılmış olduğundan emin olun.

“Waste” çekmecesinin ön tarafına kullanılmış filtre uçları için bir torba takılmalıdır.

Not: Bir uç atık torbasının varlığı sistem tarafından kontrol edilmez. Bir protokol çalışması başlatmadan önce uç atık torbasının uygun şekilde takıldığından emin olun. Daha fazla bilgi için cihazınızla sağlanan kullanım kılavuzlarına bakınız. Uç sıkışmasını önlemek için uç torbasını maksimum 96 örnek işlendikten sonra boşaltın.

Bir atık kabı, saflaştırma işlemi sırasında oluşturulan sıvı atığı toplar. “Waste” çekmecesini ancak atık kabı yerinde olduğu zaman kapatılabilir. Sıvı atığı yerel güvenlik ve çevre düzenlemelerinize uygun olarak atın. Dolmuş atık şişesini otklava koymayın. Atık şişesini maksimum 96 örnek işlendikten sonra boşaltın.

“Eluate” çekmecesinin yüklenmesi

Gereken elüsyon askısını “Eluate” çekmecesine yükleyin. Elütlerin “Eluate” çekmecesinde uzun dönemli saklanması buharlaşma veya kondansasyona neden olabileceğinden soğutma pozisyonu kullanılmalıdır. Sadece karşılık gelen soğutma adaptörüyle “Elution slot 1” (Elüsyon yuvası 1) kullanın.

Envanter taraması

Bir çalışmayı başlatmadan önce cihaz, karşılık gelen çekmelere sıradaki grup(lar) için yeterli sarf malzemesinin yüklendiğini kontrol eder.

Örnek materyalinin hazırlanması

QIASymphony DSP Dolaşan DNA Kitleri insan plazma ve idrarından dolaşan hücre dışı DNA'nın otomatik saflaştırılması için tasarlanmıştır (Tablo 1, sayfa 17).

Örnekler içinde veya üzerinde köpük oluşmasını engelleyin. Örnekler üzerinde köpük yanlış örnek hacminin pipetlenmesine yol açabilir. Başlama materyaline bağlı olarak örneğin ön muamelesi gerekebilir. Çalışmaya başlamadan önce örnekler oda sıcaklığına (15–25°C) dengelenmelidir.

Otomatik işlem (spesifik protokollerle kullanılacak örnek tüpleri hakkında bilgi dahil) ve spesifik örnek ön muameleleri hakkında daha fazla bilgi için www.qiagen.com adresindeki ürün sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek ilgili protokol sayfasına bakınız.

DNA'nın Saklanması

Örnek hazırlanmasından sonra elütler, 1 aya kadar 2–8°C'de saklanabilir. Uzun dönemli saklama için elütler –20°C veya –80°C'de saklanabilir. Donmuş elütler üç kezden fazla çözülmemelidir.

Protokole genel bakış

Tablo 1. Protokole genel bakış

Örnek	Örnek hacmi (µl)	Elüsyon hacmi (µl)	QIASymphony SP protokolü
Plazma, idrar	2000	60	circDNA_2000_DSP
	4000	60	circDNA_4000_DSP

Başlamadan önce önemli noktalar

- QIASymphony SP'yi çalıştırmaya aşına olduğunuzdan emin olun. Çalıştırma talimatı için cihazınızla sağlanan kullanım kılavuzlarına başvurun.
- Opsiyonel bakım, cihazın çalışması için zorunlu değildir, ancak kontaminasyon riskinin düşürülmesi için önemle tavsiye edilmektedir.
- İşleme başlamadan önce "İşlemin Prensipleri", sayfa 4 kısmını okuyun.
- Kullanmak istediğiniz işleme karşılık gelen protokol sayfasına aşına olduğunuzdan emin olun. (Protokol sayfaları www.qiagen.com adresinde ürün sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilir).
- Reaktif kartuşunun (RC) kuvvetli sallanmasından kaçının yoksa köpük oluşabilir ve sıvı düzeyi saptama problemlerine neden olabilir.
- Tampon ATL gereken bir ön muameleye başlamadan önce Tampon ATL içinde presipitat oluşup oluşmadığını kontrol edin. Gerekirse, presipitatu bir su banyosunda hafifçe sallayarak 70°C'de ısıtma yoluyla çözün. Tampon ATL yüzeyinden kabarcıkları emerek alın.

Başlamadan önce yapılacaklar

- İşleme başlamadan önce manyetik partiküllerin tam olarak tekrar süspansiyon haline getirildiğinden emin olun. Manyetik partikülleri içeren tekneyi ilk kez kullanmadan önce en az 3 dakika kuvvetli vorteksleyin.
- Delme kapağının reaktif kartuşuna yerleştirildiğinden ve manyetik partikül teknesinin kapağının çıkarıldığından veya kısmen kullanılmış bir reaktif kartuşu kullanılıyorsa Tekrar Kullanılabilir Mühürleme Striplerinin çıkarıldığından emin olun.
- Proteinaz K, reaktif kartuşuna dahil edilmemiştir ve kullanıcı tarafından sağlanması gerekir (örnek çekmecesi, yuva A, pozisyon 1 ve/veya 2). Doğru proteinaz K hacminin bulunduğundan emin olun. (Ayrıntılı bilgi için www.qiagen.com adresinde ürün sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek ilgili protokol sayfasına bakınız).
- Örnekler barkodluysa örnekleri tüp taşıyıcıda barkodlar QIASymphony SP sol tarafındaki barkod okuyucuya bakacak şekilde yönlendirin.
- Belirli bir protokolle uyumlu örnek tüpleri hakkında bilgi için www.qiagen.com adresinde ürün sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek karşılık gelen laboratuvar gereçleri listesine bakınız.
- Sekonder tüpler için minimum örnek hacimleri hakkında bilgi için www.qiagen.com adresinde ürün sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek karşılık gelen laboratuvar gereçleri listesine bakınız.

Protokol: Dolaşan hücre dışı DNA'nın saflaştırılması

Aşağıdaki kısım QIASymphony DSP Kitlerini kullanmak için genel bir protokoldür. Her protokol için hacimler ve tüpler dahil ayrıntılı bilgi www.qiagen.com adresinde ürün sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek protokol sayfalarında sağlanmıştır.

1. Bütün çekmeceleri ve kapağı kapatın.
2. QIASymphony SP'nin gücünü AÇIK duruma getirin ve **Sample Preparation** ekranı belirip kullanmaya hazırlama işlemi bitinceye kadar bekleyin.

Güç anahtarı QIASymphony SP cihazının sol alt köşesinde yerleşik bulunmaktadır.

3. Cihazda oturma açın.

4. Gereken elüsyon askısını "Eluate" çekmecesine yükleyin.

"Elution slot 4" (Elüsyon yuvası 4) üzerine 96 kuyucuklu bir plaka yüklemeyin. Karşılık gelen soğutma adaptörüyle "Elution slot 1" kullanılmalıdır.

96 kuyucuklu bir plaka kullanırken plakanın doğru yönde olduğundan emin olun çünkü hatalı yerleştirme aşağı yönde analiz sırasında örnek karışmasına neden olabilir.

Elüsyon Mikrotüpleri CL askısını kullanırken altı çıkıncaya kadar askıyı bükerek altını çıkarın.

5. "Waste" çekmecesinin uygun şekilde hazırlandığından emin olun ve uç kızıyağı ve sıvı atık dahil olmak üzere "Waste" çekmecesinin bir envanter taramasını yapın. Gerekirse uç atık torbasını değiştirin.

6. Gereken reaktif kartuşunu/kartuşlarını ve sarf malzemesini "Reagents and Consumables" çekmecesine yükleyin.

7. "Reagents and Consumables" çekmecesini için bir envanter taraması yapın.

8. Örnekleri uygun örnek taşıyıcıya yerleştirin ve "Sample" (Örnek) çekmecesine yükleyin.

9. Dokunmalı ekranı kullanarak işlenecek her örnek grubu ve proteinaz K için gerekli bilgileri girin.

Şu bilgileri girin:

- Örnek bilgisi (kullanılan örnek askılarına bağlı olarak).
- Çalışılacak protokol ("Analiz Kontrol Seti")
- Elüsyon hacmi ve çıkış pozisyonu

Grup hakkında bilgi girildikten sonra durum **LOADED** (YÜKLENMİŞ) durumundan **QUEUED** (SIRAYA SOKULMUŞ) durumuna dönüşür. Bir grup sıraya konur konmaz **Run** (Çalıştır) düğmesi belirir.

10. Proteinaz K'yı uygun örnek taşıyıcıya pozisyon 1 ve 2'de yerleştirin ve bunları "Sample" çekmecesine yuva A kısmına yükleyin.

11. Proteinaz K'yı **IC** düğmesine basarak tanımlayın.

12.Safılaştırma işlemini başlatmak için **Run** düğmesine basın.

Tüm işleme adımları tamamen otomatiktir. Protokol çalışması sonunda grubun durumu **RUNNING** (ÇALIŞIYOR) durumundan **COMPLETED** (TAMAMLANDI) durumuna değişir.

13.Safılaştırılmış nükleik asitleri içeren elüsyon askısını "Eluate" çekmecesinden alın.

14.DNA kullanıma hazırdır veya 2–8°C, –20°C veya –80°C'de saklanabilir.

Çalışma biter bitmez elüt plakasını "Eluate" çekmecesinden almayı öneririz. Sıcaklık ve neme bağlı olarak çalışma tamamlandıktan sonra QIASymphony SP içinde bırakılan elüsyon plakalarında kondansasyon veya buharlaşma olabilir.

Genel olarak manyetik partiküller elütlere taşınmaz. Taşıma olursa, elütlerdeki manyetik partiküller çoğu aşığı doğru uygulamayı etkilemez.

Manyetik partiküllerin aşığı doğru uygulamalar kullanılmadan çıkarılması gerekirse, elütleri içeren tüpler veya plakalar önce uygun bir mıknaatısa yerleştirelilmeli ve elütler temiz bir tüpe aktarılmalıdır (bakınız "Ek: Dolaşan hücre dışı DNA kantitasyonu", sayfa 28).

Her bir elüsyon plakası için sonuç dosyaları oluşturulur.

15.Bir reaktif kartuşu sadece kısmen kullanılmışsa, protokol çalışmasından hemen sonra buharlaşmayı önlemek için sağlanan Tekrar Kullanılabilir Mühürleme Stripleri ile mühürleyin.

Not: Kısmen kullanılmış reaktif kartuşlarının (RC) saklanması hakkında daha fazla bilgi için bakınız "Reaktif Saklama ve Muamele", sayfa 10.

16.Kullanılmış örnek tüpleri ve atığı yerel güvenlik düzenlemelerinize göre atın.

Güvenlik bilgisi için bakınız "Uyarılar ve Önlemler" sayfa 8.

17.QIASymphony SP cihazını temizleme.

Cihazınızla sağlanan kullanım kılavuzlarındaki bakım talimatını izleyin. Çapraz kontaminasyon riskini minimuma indirmek üzere uç koruyucularını düzenli olarak temizlediğinizden emin olun.

18.Cihaz çekmecelerini kapatın ve QIASymphony SP'yi KAPALI duruma getirin.

Kalite Kontrol

QIAGEN'in ISO sertifikalı Kalite Yönetim Sistemi uyarınca her QIASymphony DSP Dolaşan DNA Kiti tutarlı ürün kalitesini sağlamak üzere önceden belirlenmiş spesifikasyonlara göre test edilir.

Sınırlamalar

Sistem performansı, insan plazma ve idrarından insan dolaşan hücre dışı DNA'sı saflaştırma performans değerlendirme çalışmalarında belirlenmiştir.

Laboratuvarında QIAGEN performans değerlendirme çalışmalarının kapsamında olmadan kullanılan herhangi bir işlem için sistem performansını doğrulamak kullanıcının sorumluluğundadır.

Diagnostik sonuçlar üzerine negatif bir etki riskini minimuma indirmek üzere aşağı yönde uygulamalar için yeterli kontroller kullanılmalıdır. Daha ileri doğrulama için International Conference on Harmonisation of Technical Requirements (ICH) (Teknik Gereklilikler Uluslararası Uyumlaştırma Konferansı) *ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures (Analitik İşlemlerin Doğrulanması): Text and Methodology (Metin ve Metodoloji)* kılavuz ilkeleri önerilir.

Oluşan herhangi bir diagnostik sonuç diğer klinik veya laboratuvar bulgularıyla birlikte yorumlanmalıdır.

Semboller

Aşağıdaki tablodaki semboller arasında bu kullanma talimatında kullanılan semboller vardır.



<N>

<N> reaksiyon için yeterli reaktif içermektedir



Son kullanma tarihi



İn vitro diagnostik tıbbi cihaz



Katalog numarası



Lot numarası



Materyal numarası (yani bileşen etiketlemesi)



Bileşenler (yani dahil olanların listesi)



İçindekiler



Sayı (yani flakonlar, şişeler)



Global Ticaret Madde Numarası

Rn

R Kullanma Talimatı (El Kitabı) revizyonudur ve n revizyon numarasıdır



Sıcaklık sınırlaması



Üretici



Kullanma talimatına başvurun



Dikkat



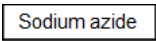
Proteinaz K



Kuyucuk numarası (yani reaktif kartuşu kuyucuğu)



Reaktif kartuşu



Sodyum azit

Sorun Giderme Kılavuzu

Bu sorun giderme kılavuzu oluşabilecek herhangi bir problemi çözmekte faydalı olabilir. İrtibat bilgisi için arka kapağa bakın ya da www.qiagen.com sitesini ziyaret edin.

Açıklama ve öneriler

Genel muamele

Dokunmalı ekranda gösterilen hata mesajı Hata mesajı bir protokol sırasında gösterilirse cihazınızla sağlanan kullanım kılavuzlarına başvurun.

QIASymphony DSP kitinin açılmış kartuşunun reaktif teknesinde presipitat

- a) Tampon buharlaşması Aşırı buharlaşma tamponlarda artmış tuz konsantrasyonuna neden olabilir. Reaktif kartuşunu (RC) atın. Kısmen kullanılmış bir reaktif kartuşunun (RC) tampon teknelerini, saflaştırma için kullanılmadığında Tekrar Kullanılabilir Mühürleme Stripleri ile mühürlediğinizden emin olun.
- b) Storage of reagent cartridge (RC) (Reaktif kartuşunun (RC) saklanması) Reaktif kartuşunun (RC) 15°C altında saklanması presipitatlar oluşmasına neden olabilir.

DNA'nın düşük verimliliği

- a) Manyetik partiküller tam olarak tekrar süspansiyon haline getirilmemiş İşleme başlamadan önce manyetik partiküllerin tam olarak tekrar süspansiyon haline getirildiğinden emin olun. Kullanmadan önce en az 3 dakika vorteksleyin.

Açıklama ve öneriler

- b) Pipet ucunun çözünmez materyal nedeniyle tıkanması
- QIAsymphony saflaştırma işlemine başlanmadan önce örnekten çözünmez materyal çıkarılmamıştır.
- Gerekirse, www.qiagen.com adresinde ürün sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek karşılık gelen protokol sayfasında tanımlanan ön muamele işlemlerini kullanın.
- c) Örnek materyali düşük konsantrasyonda dolaşan DNA içerir
- Örnek materyalinde çok düşük miktarlarda dolaşan hücre dışı DNA nedeniyle kullanılan kantitasyon yöntemine bağlı olarak DNA konsantrasyonunu saptamak mümkün değildir.
- Elütlerde DNA konsantrasyonunu kontrol etmek için hassas qPCR kullanılması önerilir.
- d) Reaktif kartuşunun tam tekrar kapatılmaması
- Çevre havayla temas tamponların stabilitesinin azalmasına ve sonuçta kısmen kullanılmış bir reaktif kartuşuyla (RC) ccfDNA ekstraksiyonu etkinliğinin azalmasına neden olabilir. Kısmen kullanılmış bir reaktif kartuşunun tampon teknelerini, saflaştırma için kullanılmadığında Tekrar Kullanılabilir Mühürleme Stripleri ile dikkatlice mühürlediğinizden emin olun.

Açıklama ve öneriler

- e) Stabilize edilmemiş idrar örneğinde dolaşan hücre dışı DNA'nın hızlı bozulması

Örnek toplamadaki sonra stabilize edilmemiş idrar örneklerinde dolaşan hücre dışı DNA'nın hızlı bozulması nedeniyle elütlerde DNA konsantrasyonunun olmadığı veya düşük olduğunun saptanması mümkündür. İdrar örneklerini karşılık gelen protokol sayfasında tanımlandığı şekilde stabilize etmek önerilir.

Alternatif olarak idrar örneklerini toplama ve santrifügasyondan hemen sonra karşılık gelen protokol sayfasında tanımlandığı şekilde ATL ön muamelesine ve sonra cihazda DNA ekstraksiyonuna tabi tutun.

Örnek aktarma yok/eksik

- a) Hatalı örnek hacmi yüklenmiş

Sırasıyla 2,4 ml'den az örnek hacmi ve 4,5 ml'den az örnek hacmi yüklenirse, örnek için artmış belirsiz işaretleme veya örneğin aktarılmaması (geçersiz işaretleme) riski mevcuttur.

Doğru örnek hacmini karşılık gelen laboratuvar gereçleri listesinde tanımlandığı şekilde yükleyin. Yetersiz örnek mevcutsa, örneği yüklemeyen önce örneğe gereken örnek hacmine kadar PBS ekleyin.

- b) Örnek tüpünde kabarcıklar ve/veya köpük

Örnekte ve/veya örnek giriş tüpünde kabarcıklar veya köpük, yalancı sıvı düzeyi saptama ve sonrasında eksik örnek aktarmayla sonuçlanabilir. Örnek tüpünden kabarcıkları giderin.

Açıklama ve öneriler

Cihaz çalışması sırasında uçlarda kabarcıklar görünüyor

Azalmış örnek giriş hacmiyle kombinasyon halinde FIX laboratuvar gereçlerinin kullanılması

FIX laboratuvar gereçleri üzerine sırasıyla 2,1 ml örnek hacmi ve 4,1 ml örnek hacminden az yüklenirse, cihaz tarafından saptanmayacak şekilde örnek hacminin azalmış aktarılması konusunda artmış risk vardır. Bu durum örnek aktarma ve/veya sonraki bağlama adımı sırasında kabarcık oluşumuyla sonuçlanabilir.

FIX laboratuvar gereçleri kullanırken doğru örnek hacmini karşılık gelen laboratuvar gereçleri listesinde tanımlandığı şekilde yükleyin. Yetersiz örnek mevcutsa, örneği yüklemeyen önce örneğe gereken örnek hacmine kadar PBS ekleyin.

Ek: Dolaşan hücre dışı DNA kantitasyonu

Örnek materyalinde çok düşük dolaşan hücre dışı DNA konsantrasyonları nedeniyle DNA'nın bir spektrofotometre ile ölçülmesi önerilmez. Dolaşan hücre dışı DNA konsantrasyonunun belirlenmesi için bir hassas ve doğru floresans tabanlı kantitasyon tahlili veya gerçek zamanlı bir PCR tahlili kullanılmalıdır.

Manyetik partiküllerin çıkarılması gerekiyorsa DNA'yı içeren tüpü manyetik partiküller ayrılıncaya kadar uygun bir manyetik ayırıcıya (örn. QIAGEN 12 Tüp Miknatısı, kat. no. 36912) uygulayın.

DNA, mikroplakalar içindeyse mikroplakayı manyetik partiküller ayrılıncaya kadar uygun bir manyetik ayırıcıya (örn. QIAGEN 96 Kuyucuk Miknatısı Tip A, kat. no. 36915) uygulayın. Uygun bir manyetik ayırıcı yoksa, DNA'yı içeren tüpü varsa kalan manyetik partikülleri pelet haline getirmek için bir mikrosantrifüjde tam hızda 1 dakika santrifüjleyin.

Sipariş Bilgisi

Ürün	İçindekiler	Kat. no.
QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	2 reaktif kartuşu ve Proteinaz K Tüpleri ve aksesuarları içerir	937556
QIASymphony SP		
QIASymphony SP	QIASymphony örnek hazırlama modülü, parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti	9001297
İlgili ürünler		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	İdrar örneklerinin ön muamelesi için 4 x 50 ml Tampon ATL	939016
Proteinase K (10 ml)	1 x 10 ml şişe	1105392
Reagent Cartridge Holder (2)	QIASymphony SP ile kullanım için reaktif kartuşu tutucu	997008
Cooling Adapter, 2 ml, v2, Qsym	2 ml vidalı kapaklı tüpler için soğutma adaptörü. QIASymphony "Eluate" çekmesinde kullanılmak üzere	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	EMT askıları için soğutma adaptörü. QIASymphony "Eluate" çekmesinde kullanılmak üzere	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	1,5 ml Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock tüpleri için soğutma adaptörü. QIASymphony "Eluate" çekmesinde kullanılmak üzere	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	8 kuyuklu örnek hazırlama kartuşları, QIASymphony SP ile kullanım için	997002
8-Rod Covers (144)	8 Rod Kılıfları, QIASymphony SP ile kullanım için	997004

Ürün	İçindekiler	Kat. no.
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Tek Kullanımlık Filtre Uçları, askılanmış; (8 x 128). QIAcube® ve QIASymphony SP/AS ile kullanım içindir	990332
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	Tek Kullanımlık Filtre Uçları, askılanmış; (8 x 128). QIASymphony SP/AS ile kullanım içindir	997024
Tip Disposal Bags (15)	Uç atık torbaları, QIASymphony SP ile kullanım için	9013395
12-Tube Magnet	Manyetik partikülleri 12 x 1,5 ml veya 2 ml tüplerde ayırmak için mıknatıs	36912
96-Well Magnet Type A	Manyetik partikülleri 96 kuyucuklu plakalarda, 2 x 96 Kuyucuklu Mikroplaka FB'de ayırmak için mıknatıs	36915
Reuse Seal Set (20)	Kısmen kullanılmış QIASymphony reaktif kartuşlarını mühürlemek için tekrar kullanılabilir mühürleme setleri	997006
Elution Microtubes CL (24 x 96)	Steril olmayan polipropilen tüpler (0,85 ml maksimum kapasite, 0,7 ml altında saklama kapasitesi, 0,4 ml elüsyon kapasitesi); 96'lık askılar halinde 2304; kapak stripleri dahil	19588

Güncel lisanslama bilgisi ve ürüne spesifik red beyanları için ilgili QIAGEN kiti el kitabı veya kullanım kılavuzuna bakınız. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Technical Services veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Bu ürünün satın alınması, satın alanın insan in vitro diagnostığı için diagnostik hizmetler yapılmasında kullanılmasına izin verir. Burada satın alma ile bu spesifik kullanım hakkı dışında herhangi bir türde herhangi bir genel patent veya başka lisans verilmemektedir.

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

Bu belgede kullanılan tescilli isimler, ticari markalar vs. bu şekilde işaretlenmiş olsalar bile kanunen koruma altında olmadıkları düşünülmemelidir.

QIASymphony DSP Dolaşan DNA Kiti için Sınırlı Lisans Sözleşmesi

Bu ürünün kullanılması ürünün herhangi bir satın alanı veya kullanıcısının şu şartları kabul ettiğini belirtir:

1. Ürün sadece ürünle birlikte ve bu el kitabında sağlanan protokollerle uyumlu olarak ve kit içindeki bileşenlerle birlikte kullanılabilir. QIAGEN ürünle sağlanan protokoller, bu el kitabı ve www.qiagen.com adresinde bulunan ek protokollerde tanımlananlar dışında bu kite dahil edilmemiş herhangi bir bileşen ile kitin içindeki bileşenleri kullanma veya birleştirme açısından herhangi bir fikri mülkiyet altında bir lisans vermez. Bu ek protokollerden bazıları QIAGEN kullanıcıları tarafından QIAGEN kullanıcıları için sağlanmıştır. Bu protokoller QIAGEN tarafından iyice test edilmiş veya optimize edilmiş olmayabilir. QIAGEN üçüncü tarafların haklarını ihlal etmediğini garanti etmez ve beyan etmez.
2. Açık olarak belirtilen lisanslar dışında QIAGEN bu kitin ve/veya kullanımının/kullanımlarının üçüncü tarafların haklarını ihlal etmediği konusunda garanti vermez.
3. Bu kit ve bileşenleri tek kullanım için lisanslanmıştır ve tekrar kullanılamaz, yenilenemez veya tekrar satılamaz.
4. QIAGEN açık olarak belirtilenler dışında açık veya zımni herhangi bir başka lisansı özellikle reddeder.
5. Kiti satın alıcısı ve kullanıcısı yukarıda yasaklanan herhangi bir eyleme neden olabilecek veya bunları kolaylaştırabilecek herhangi bir adım atmamayı veya başkasının atmasına izin vermemeyi kabul eder. QIAGEN bu Sınırlı Lisans Sözleşmesinin yasaklarını herhangi bir Mahkemede yürürlüğe koyabilir ve kit ve/veya bileşenleriyle ilişkili herhangi bir fikri mülkiyet hakkı veya bu Sınırlı Lisans Sözleşmesini yürürlüğe koymak için tüm araştırma ve Mahkeme masraflarını avukat masrafları dahil olmak üzere geri alacaktır.

Güncellenmiş lisans şartları için bakınız www.qiagen.com.

HB-2309-002 1103177TR 157018501 03/2017

© 2017 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

