

2020. gada decembris

QIAsymphony[®] SP protokola lapa

circDNA_2000_DSP_V2 un
circDNA_4000_DSP_V2

Šis dokuments ir QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit protokola lapas 2. versija R1.

Vispārīga informācija

Lietošanai in vitro diagnostikā.

Šis protokols ir paredzēts cirkulējošas šūnas nesaturošas cilvēka DNS izdalīšanai no svaigas vai sasaldētas cilvēka plazmas un urīna, izmantojot sistēmu QIASymphony SP un QIASymphony DSP Circulating DNA Kit.

Komplekts	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (kat. Nr. 937556)	
Parauga materiāls	Cilvēka plazma: apstrādāta ar EDTA vai citrātu vai stabilizēta ar ccfDNA Cilvēka urīns: nestabilizēts vai stabilizēts	
Protokola nosaukums	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
Noklusējuma testa kontroles komplekts	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
Eluēšanas tilpums	60 µl	60 µl
Nepieciešamā programmatūras versija	Versija 4.0 vai jaunāka	Versija 5.0 vai jaunāka

Nodalījums "Sample" (Paraugs)

Parauga tips	Cilvēka plazma (skatīt sadaļu "Parauga materiāla sagatavošana") un cilvēka urīns (stabilizēts vai nestabilizēts)
Parauga tilpums	Atkarībā no izmantotā parauga tipa Lai iegūtu papildu informāciju, skatiet laboratorijas aprīkojuma sarakstu, kas ir pieejams izstrādājumu lapas resursu cilnē vietnē www.qiagen.com .
Primāro paraugu stobriņi	N/A
Sekundāro paraugu stobriņi	Lai iegūtu papildu informāciju, skatiet laboratorijas aprīkojuma sarakstu, kas ir pieejams izstrādājumu lapas resursu cilnē vietnē www.qiagen.com .
Ieliktni	N/A
Citi	Proteināze K ir jāpievieno A atverē (1. un/vai 2. pozīcijā)

N/A = neattiecas.

Proteināzes K sagatavošana nodalījumā "Sample" (Paraugs)

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit komplekts satur lietošanai gatavu šķīdumu proteināzi K, ko var uzglabāt istabas temperatūrā (15–25°C).

Piezīme. Stobriņi, kas satur proteināzi K, tiek ievietoti stobriņu glabātājā. Stobriņš(-i), kas satur proteināzi K, jāievieto nodalījuma "Sample" (Paraugs) A atveres 1. un/vai 2. pozīcijā. Lai iegūtu informāciju par nepieciešamajiem stobriņu tiem, skatiet laboratorijas aprīkojuma sarakstu, kas ir pieejams izstrādājumu lapas resursu cilnē vietnē www.qiagen.com.

Paraugu skaits*	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 [†]

* Katram protokola circDNA_2000_DSP paraugam nepieciešams 110 µl tilpuma un katram protokola circDNA_4000_DSP paraugam — 220 µl tilpuma, kā arī papildu 1100 µl tukšā tilpuma [(n x 110 vai 220 µl) + 1100 µl].

[†] Protokolam circDNA_4000_DSP: ja tiek apstrādāti vairāk nekā 48 paraugi, izmantojiet vēl vienu stobriņu. Maksimālais katra stobriņa uzpildīšanas tilpums ir 11,660 µl. Otrajam stobriņam nepieciešams papildu 1100 µl tukšā tilpuma.

Nodalījums “Reagents and Consumables” (Reaģenti un izejmateriāli)

Pozīcija A1 un/vai A2	Reaģentu kasetne
Pozīcija B1	N/A
Uzgaļu paplātes turētājs 1–18	Vienreizējas lietošanas filtru uzgaļi, 200 µl vai 1500 µl
Ierīces bloka turētājs 1–4	Ierīču bloki ar paraugu sagatavošanas kasetnēm vai 8-Rod Covers

N/A = neattiecas.

Nodalījums “Waste” (Atkritumi)

Ierīces bloka turētājs 1–4	Tukši ierīču bloki
Atkritumu maisa turētājs	Atkritumu maiss
Šķidro atkritumu pudeles turētājs	Tukša šķidro atkritumu pudele

Nodalījums “Eluate” (Eluāts)

Eluēšanas statīvs (ieteicams izmantot 1. atveri dzesēšanas pozīcijā)	Lai iegūtu papildu informāciju, skatiet laboratorijas aprīkojuma sarakstu, kas ir pieejams izstrādājumu lapas resursu cilnē vietnē www.qiagen.com .
---	---

Nepieciešamie plastmasas piederumi

Protokols circDNA_2000_DSP

Plastmasas piederumi	Viena partija 24 paraugi*	Divas partijas 48 paraugi*	Trīs partijas 72 paraugi*	Četras partijas 96 paraugi*
Vienreizējas lietošanas filtru uzgaļi, 200 µl ^{†‡}	28	56	84	112
Vienreizējas lietošanas filtru uzgaļi, 1500 µl ^{†‡}	56	112	168	224
Paraugu sagatavošanas kasetnes [§]	15	30	45	60
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Ja katrā partijā izmantosit mazāk nekā 24 paraugus, tiks samazināts katrā testā nepieciešamo vienreizējas lietošanas filtru uzgaļu skaits.

[†] Katrā filtru uzgaļu statīvā ir pieejami 32 filtru uzgaļi.

[‡] Nepieciešamajā filtru uzgaļu skaitā ir iekļauti filtru uzgaļi 1 inventāra skenēšanai katrā reaģentu kasetnē.

[§] Pieejamas 28 paraugu sagatavošanas kasetnes komplekta kārbā.

[¶] Pieejami divpadsmit 8-Rod Covers komplekta kārbā.

Protokols circDNA_4000_DSP

Plastmasas piederumi	Viena partija 24 paraugi*	Divas partijas 48 paraugi*	Trīs partijas 72 paraugi*	Četras partijas 96 paraugi*
Vienreizējas lietošanas filtru uzgaļi, 200 µl†‡	28	56	84	112
Vienreizējas lietošanas filtru uzgaļi, 1500 µl†‡	96	192	288	384
Paraugu sagatavošanas kasetnes§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Ja katrā partijā izmantosit mazāk nekā 24 paraugus, tiks samazināts katrā testā nepieciešamo vienreizējas lietošanas filtru uzgaļu skaits.

† Katrā filtru uzgaļu statīvā ir pieejami 32 filtru uzgaļi.

‡ Nepieciešamajā filtru uzgaļu skaitā ir iekļauti filtru uzgaļi 1 inventāra skenēšanai katrā reaģentu kasetnē.

§ Pieejamas 28 paraugu sagatavošanas kasetnes komplekta kārbā.

¶ Pieejami divpadsmit 8-Rod Covers komplekta kārbā.

Piezīme. Filtru uzgaļu skaits var atšķirties no skārienukrānā parādītā skaita atkarībā no iestatījumiem. Ieteicams ievietot maksimālo iespējamo uzgaļu skaitu.

Eluēšanas tilpums

Atlasītais eluēšanas tilpums	Sākotējais eluēšanas tilpums
60 µl	75 µl

Eluēšanas tilpums jāizvēlas skārienukrānā. Vidējais pieejamais eluēšanas tilpums ir ≥ 60 µl. Atsevišķos gadījumos galīgais eluāta tilpums atsevišķiem paraugiem var būt līdz 5 µl mazāks nekā atlasītajam tilpumam (piemēram, 55 µl). Ieteicams pārbaudīt faktisko eluāta tilpumu, kad izmantojat automatizētu testu komplekta sistēmu, kas nepārbauda eluāta tilpumu pirms pārneses.

Eluātu glabāšana

Ieteicams noņemt eluāta plāksni no nodalījuma "Eluate" (Eluāts) tūlīt pēc apstrādes beigām. Eluēšanas plāksnes var atstāt sistēmā QIASymphony SP pēc apstrādes visas nakts laikā (maksimāli 16 stundas, ieskaitot darba laiku; ieteicamie vides apstākļi: 18–26°C un relatīvais mitrums 20–75%). Atkarībā no temperatūras un mitruma eluātam var būt kondensācija vai iztvaikošana.

Kad paraugs ir sagatavots, eluātus var uzglabāt maksimāli 1 mēnesi 2–8°C temperatūrā. Ja nepieciešama ilgstoša glabāšana, eluātus var uzglabāt temperatūrā no –30°C līdz –15°C vai no –90°C līdz –65°C. Sasaldētus eluātus drīkst atsaldēt maksimāli 3 reizes.

Parauga materiāla sagatavošana

Strādājot ar ķīmiskām vielām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles. Lai saņemtu papildinformāciju, iepazīstieties ar attiecīgajām drošības datu lapām (DDL), kas ir pieejamas pie produkta piegādātāja.

Svarīga informācija pirms darba sākšanas

- Novērš putu veidošanos paraugos vai uz tiem.
- Pirms apstrādes procesa uzsākšanas paraugi jāpielāgo istabas temperatūrai (15–25°C).

Cilvēka plazma

Asins paraugus, kas tiek apstrādāti ar EDTA vai citrātu kā antikoagulantu, iespējams izmantot plazmas sagatavošanai. Var izmantot arī plazmu, kas sagatavota no ccfDNA stabilizētiem asins parauga ņemšanas stobriņiem. Plazma tiek iegūta saskaņā ar ražotāja norādījumiem.

Kā antikoagulantu izmantojot EDTA vai citrātu, plazmas atdalīšanu ieteicams veikt uzreiz pēc asins nodošanas.

Noteiktu pakārtotu analīžu gadījumā var būt nepieciešama nukleīnskābju izdalīšana no vezikulām vai to samazināšana. Šādos gadījumos pēc sākotnējās plazmas iegūšanas ieteicams 10 minūtes istabas temperatūrā (15–25°C) veikt centrifugēšanu lielā ātrumā (16 000 x g).

Pēc parauga paņemšanas un centrifugēšanas plazmu var uzglabāt istabas temperatūrā līdz 7 dienām un 2–8°C temperatūrā līdz 14 dienām. Ilgākai glabāšanai ieteicams sasaldēt alikvotas –20°C vai –80°C temperatūrā. Sasaldētu plazmu drīkst atkausēt maksimāli 3 reizes. Atkārtota sasaldēšana un atkausēšana izraisa olbaltumvielu denaturāciju un precipitāciju, kas var radīt samazinātu cirkulējošo šūnu nesaturošo nukleīnskābju skaitu. Ja paraugos ir redzami krioprecipitāti, centrifugējiet ar ātrumu 6800 x g 3 minūtes istabas temperatūrā (15–25°C) un pārnesiet supernatantus, neizkustinot granulas, uz sekundāro paraugu stobriņu (skatiet laboratorijas aprīkojuma sarakstu, kas ir pieejams izstrādājumu lapas resursu cilnē vietnē www.qiagen.com). Nekavējoties sāciet izdalīšanas procedūru.

Cilvēka urīns

Sakarā ar cirkulējošās šūnu nesaturošās DNS ātru noārdīšanos pēc urīna parauga paņemšanas ir ļoti ieteicams nekavējoties stabilizēt urīna paraugus.

Stabilizēts cilvēka urīns

Stabilizēto urīnu var uzglabāt istabas temperatūrā(15–25°C) vai 2–8°C temperatūrā līdz 7 dienām. Ilgākai glabāšanai ieteicams sasaldēt alikvotas temperatūrā no –30°C līdz –15°C vai no –90°C līdz –65°C.

Stabilizētiem urīna paraugiem nav nepieciešama paraugu pirmapstrāde. Pēc stabilizācijas urīna paraugus ieteicams centrifugēt ar nelielu ātrumu (1900 x g) 10 minūtes istabas temperatūrā (15–25°C), lai pirms cirkulējošās šūnu nesaturošās DNS ekstrakcijas izņemtu šūnas. Ja pēc centrifugēšanas supernatantos ir redzami precipitāti, paraugi jāsasilda ūdens vannā temperatūrā līdz 25°C, lai precipitātus izšķīdinātu. Pirms apstrādes sākšanas stabilizētos urīna paraugus pārnes uz sekundāro paraugu stobriņu un pēc tam ieliek šo stobriņu paraugu nesējā (skatiet laboratorijas aprīkojuma sarakstu, kas ir pieejams izstrādājumu lapas resursu cilnē vietnē www.qiagen.com).

Nestabilizēts cilvēka urīns

Pirms sākt protokolu, kam nepieciešams Buffer ATL, pārbaudiet, vai Buffer ATL nav izveidojušās nogulsnes. Ja nepieciešams, izšķīdiniet, karsējot 70°C temperatūrā, viegli samaisot ūdens vannā. Aspirācijas burbulīši no Buffer ATL virsmas.

Piezīme. Buffer ATL (Buffer ATL, 4 x 50 ml) (kat. Nr. 939016) nav QIASymphony DSP Circulating DNA Kit komplekta daļa, un tas ir jāpasūta atsevišķi.

Lai izņemtu šūnas, urīna paraugus uzreiz pēc paņemšanas ieteicams centrifugēt 10 minūtes istabas temperatūrā (15–25°C) ar nelielu ātrumu (1900 x g). Nestabilizētiem urīna paraugiem ir nepieciešama paraugu pirmapstrāde.

Svarīgi! Pirms pirmapstrādes līdzsvarojiet paraugus līdz istabas temperatūrai (15–25°C).

Svarīgi! Centrifugēšana un pirmapstrāde jāveic 4 stundu laikā pēc urīna parauga ņemšanas.

- Sajauciet 2500 µl urīna (circDNA_2000_DSP) vai 4500 µl urīna (circDNA_4000_DSP) attiecīgi ar 250 µl vai 450 µl Buffer ATL.
- Inkubējiet paraugus istabas temperatūrā (15–25°C) 1 stundu.
- Centrifugējiet paraugus ar ātrumu 1900 x g 10 minūtes istabas temperatūrā (15–25°C).
Ja pēc centrifugēšanas supernatantā ir redzami precipitāti, paraugi jāsasilda ūdens vannā temperatūrā līdz 25°C, lai precipitātus izšķīdinātu.
- Supernatantus pārnes uz sekundāro paraugu stobriņu un pēc tam ieliek šo stobriņu paraugu nesējā (skatiet laboratorijas aprīkojuma sarakstu, kas ir pieejams izstrādājumu lapas resursu cilnē vietnē www.qiagen.com)

Svarīgi! Nestabilizētā urīnā cirkulējošās šūnu nesaturošās DNS stabilitāte un integritāte ir ierobežota. Katrā QIASymphony testā ieteicams ievietot ne vairāk kā vienu 24 paraugu partiju, lai samazinātu urīna paraugu apstrādes laiku sistēmā.

Traucējošas vielas

Plazmas paraugi ar lielu gamma-globulīna koncentrāciju (> 30 g/l) var izraisīt samazinātu cirkulējošās šūnas nesaturošās DNS atjaunošanos.

Pārskatījumu vēsture

Datums	Izmaiņas
2. versija, R1 2020. gada decembris	Sākotnējais izdevums.

Jaunāko informāciju par licencēšanu un preču juridiskās atrunas skatiet attiecīgā QIAGEN komplekta rokasgrāmatā vai lietotāja instrukcijā. QIAGEN komplektu lietotāja rokasgrāmatas un lietotāja instrukcijas ir pieejamas vietnē www.qiagen.com, vai tās var saņemt, sazinoties ar QIAGEN tehniskā atbalsta centriem vai vietējo izplatītāju.

Preču zīmes: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN grupa). Nedrīkst uzskatīt, ka šajā dokumentā minētos reģistrētos nosaukumus, preču zīmes u.c. neaizsargā likums, pat ja pretējais nav īpaši norādīts.

12/2020 HB-2309-S02-001 © 2020 QIAGEN, visas tiesības aizsargātas.

Pasūtīšana www.qiagen.com/shop | Tehniskais atbalsts support.qiagen.com | Tīmekļa vietne www.qiagen.com