

Şubat 2017

# QIAsymphony® SP Protokol Sayfası

circDNA\_2000\_DSP\_V1 ve circDNA\_4000\_DSP\_V1

Bu belge QIAsymphony circDNA\_2000\_DSP\_V1 ve circDNA\_4000\_DSP\_V1 Protokol Sayfası,  
Versiyon 1, R1 belgesidir.

## Genel bilgi

İn vitro diagnostik kullanım için.

Bu protokol QIAAsymphony SP ve QIAAsymphony DSP Dolaşan DNA Kitini kullanarak taze veya donmuş insan plazma ve idrarından insan dolaşan hücre dışı DNA saflaştırılması içindir.

<b>Kit</b>	QIAAsymphony DSP Dolaşan DNA Kiti (kat. no. 937556)
<b>Örnek materyali</b>	İnsan plazması: EDTA veya sitrat antikoagülyasyonlu, veya ccfDNA stabilize edilmiş İnsan idrarı: stabilize edilmiş veya edilmemiş
<b>Protokol adı</b>	circDNA_2000_DSP_V1 circDNA_4000_DSP_V1
<b>Varsayılan Analiz Kontrol Seti</b>	ACS_circDNA_2000_DSP_V1 ACS_circDNA_4000_DSP_V1
<b>Elüsyon hacmi</b>	60 µl
<b>Gereken yazılım versiyonu</b>	Versiyon 4.0.3 veya üstü

## “Sample” (Örnek) çekmecesi

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

n/a = uygulanamaz.

## “Sample” çekmecesinde proteinaz K hazırlanması

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

**Not:** Proteinaz K içeren tüpler bir tüp taşıyıcıya yerleştirilir. Proteinaz K içeren tüp(ler) "Sample" çekmesinde yuva A içinde pozisyon 1 ve/veya 2 içine yerleştirilmelidir. Gerekli tüp tipi için [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinde ürün sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek laboratuvar gereçleri listesine bakınız.

Örneklerin sayısı*	circDNA_2000_DSP	circDNA_4000_DSP
8	1980 µl	2860 µl
24	3740 µl	6380 µl
48	6380 µl	11,660 ml†
96	11,660 ml	22,220 ml†

\* Her örnek için, 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 Sarflar) 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 Kılıfları 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" (Elüt) çekmecesi

Elüsyon askısı (yuva 1, soğutma pozisyonu kullanılması önerilir)	Daha fazla bilgi için, <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> adresinde ürün sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek laboratuvar gereçleri listesine bakınız.
--	--

## Gerekli plastik gereçler

### Protokol circDNA\_2000\_DSP

Plastik gereçler	Bir grup 24 örnek*	İki grup 48 örnek*	Dört grup 96 örnek*
Tek kullanımlık filtre uçları, 200 µl†‡	24	48	96
Tek kullanımlık filtre uçları, 1500 µl†‡	64	120	232
Örnek hazırlama kartuşları§	15	30	60
8 Rod Kılıfları¶	3	6	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 Kılıfı vardır.

### Protokol circDNA\_4000\_DSP

Plastik gereçler	Bir grup 24 örnek*	İki grup 48 örnek*	Dört grup 96 örnek*
Tek kullanımlık filtre uçları, 200 µl†‡	24	48	96
Tek kullanımlık filtre uçları, 1500 µl†‡	104	200	392
Örnek hazırlama kartuşları§	18	36	72
8 Rod Kılıfları¶	3	6	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 Kılıfı 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  $\geq 60 \mu\text{l}$ 'dir. Ayrı durumlarda tek örnekler için son elüt hacmi seçilen hacimden  $5 \mu\text{l}$ 'ye kadar daha az olabilir (örn.,  $55 \mu\text{l}$ ). Aktarma öncesinde elüt hacmini doğrulamayan bir otomatik tahlil kurulumu sistemi kullanılırken fiili elüt hacmini kontrol etmek önerilir.

## Elütlerin Saklanması

Çalışma biter bitmez elüt plakasını "Eluate" 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 elütte kondansasyon veya buharlaşma olabilir.

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 3 kezden fazla çözülmemelidir.

## Örnek materyalinin hazırlanması

Kimyasallarla çalışırken daima uygun bir laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldivenler ve koruyucu gözlükler kullanın. Daha fazla bilgi için ürün tedarikçisinden elde edilebilecek uygun güvenlik veri sayfalarına (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 santrif gasyondan 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  z lmemelidir. Tekrarlanan dondurma-çözme proteinlerin denatürasyon ve presipitasyonuna yol açar ve sonuçta daha düşük dolaşan hücre dışı nükleik asit verimiyle sonuçlanabilir. Örneklere kriyopresipitatlar görünüyorsa oda sıcaklığında (15–25°C) 6.800 x g hızında 3 dakika santrifüje edin ve s pernatanları, peletleri bozmadan sekonder bir örnek tüpüne aktarın ([www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinde örnek sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek laboratuvar gereçleri listesine bakınız). Saflaştırma işlemine 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 –20°C veya –80°C'de dondurmak önerilir.

Stabilize edilmiş idrar örnekleri için örnek  n 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. Santrif gasyondan sonra s pernatanlarda presipitatlar görülüyorsa presipitatları 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](http://www.qiagen.com) adresinde örnek sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek laboratuvar gereçleri listesine bakınız).

#### "Stabilize edilmemiş" insan idrarı

Tampon ATL gereken bir protokole başlamadan önce Tampon ATL içinde presipitat oluşup oluşmadığını kontrol edin. Gerekirse, bir su banyosunda hafifçe sallayarak 70°C'de ısıtma yoluyla  z n. Tampon ATL yüzeyinden kabarcıkları emerek alın.

**Not:** Tampon ATL (Tampon ATL, 4 x 50 ml, kat. no. 939016) QIAAsymphony DSP Dolaşan DNA Kitinin bir parçası değildir ve ayrı sipariş edilmelidir.

İdrar örneklerini hücreleri gidermek için toplanmalarından hemen sonra oda sıcaklığında (15–25°C) 10 dakika boyunca (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 Tampon 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 presipitatlar görülüyorsa presipitatları 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](http://www.qiagen.com) adresinde ürün sayfasında kaynaklar sekmesi altında bulunabilecek laboratuvar gereçleri listesine bakınız).

**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.

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](http://www.qiagen.com) adresinde bulunabilir veya QIAGEN Technical Services veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Ticari markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Bu belgede kullanılan tescilli isimler, ticari markalar vs. bu şekilde işaretlenmemiş olsalar bile kanunen koruma altında olmadıkları düşünülmelidir.  
02/2017 HB-2309-S01-001  
© 2017 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

