

2017. február

QIAasympphony® SP

Protokoll lap

circDNA_2000_DSP_V1 és
circDNA_4000_DSP_V1

Ez a dokumentum a QIAasympphony circDNA_2000_DSP_V1 és circDNA_4000_DSP_V1
Protokoll Lap, 1. verzió, R1

Általános információ

In vitro diagnosztikai használatra.

Ez a protokoll a friss vagy fagyasztott humán plazmából és vizeletből a humán cirkuláló sejtmentes DNS tisztítására alkalmas kit a QIAasymphony SP és a QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit használatával.

Kit	QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit (kat.szám 937556)
Kiindulási minta	Humán plazma: EDTA vagy citrát antikoagulált, vagy stabilizált ccfDNS Humán vizelet: nem-stabilizált vagy stabilizált
Protokoll neve	circDNA_2000_DSP_V1 circDNA_4000_DSP_V1
Alapértelmezett Assay Control Set	ACS_circDNA_2000_DSP_V1 ACS_circDNA_4000_DSP_V1
Elúciós térfogat	60 µl
Elvárt software verzió	4.0.3 verzió vagy újabb verzió

“Minta” fiók

Minta típus	Humán plazma (“Kiindulási minta előkészítése”) és Humán vizelet (stabilizált vagy nem stabilizált)
Minta térfogat	A használt mintavevő cső típusától függ További információért nézze meg a laboratóriumi listát, amely a termékoldal lapján található www.qiagen.com .
Elsődleges mintavételi csövek	n/a
Másodlagos mintavételi csövek	További információért nézze meg a laboratóriumi listát, amely a termékoldal lapján található www.qiagen.com .
Behelyezés	n/a
Egyéb	Proteináz K elhelyezése a slot A (1 és/vagy 2-es pozíciójába)

n/a = nem alkalmazható.

A proteináz K előkészítése a "Minta" fiókba

A QIASymphony DSP Circulating DNA Kit használatra kész proteináz K oldatot tartalmaz, mely szobahőmérsékleten tárolható.

Megjegyzés: A proteináz K-t tartalmazó csöveket egy csőtartóba helyezzük. A proteináz K-t tartalmazó csöveket az "Minta" fiók "A" slotjában lévő 1-es és / vagy 2-es pozícióban kell elhelyezni. A megfelelő csőtípus használatához nézze meg a laboratóriumi listát, mely amely a termékoldal lapján található www.qiagen.com.

Minták száma*	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†

* Minden egyes minta esetében, 110 µl-t a circDNA_2000_DSP-hez vagy 220 µl-t a circDNA_4000_DSP-hez kell adni, plusz egy további 1100 µl-nyi üres térfogat [(n x 110 vagy 220 µl) + 1100 µl].

† A circDNA_4000_DSP-hez: Ha több mint 48 mintát dolgoz fel, használjon egy második csövet. A maximális adagolási mennyiség csövenként 11,660 µl. A második cső esetében további 1100 µl üres térfogat szükséges.

"Reagensek és Eszközök" fiók

A1 és/vagy A2 pozíció	Reagens cartridge
B1 pozíció	n/a
Pipettahegy tartó rack 1–18	Eldobható szűrős-pipettahegy, 200 µl vagy 1500 µl
Egység doboz tartó 1–4	Az egység dobozok minta előkészítő cartridge-okat vagy 8-rúd burkolatot tartalmaz

n/a = nem alkalmazható.

"Hulladék" fiók

Egység doboz tartó 1–4	Üres egység dobozok
Hulladék tároló zsák	Hulladékos zsák
Folyadék-hulladék tároló edény	Üres folyadék-tároló edény

“Eluátum” fiók

Elúciós rack (javasolt a slot 1 használata, hűtött pozíció)

További információért nézze meg a laboratóriumi listát, amely a termékoldal lapján található www.qiagen.com.

Kötelező műanyag

Protokoll circDNA_2000_DSP

Műanyag	Egy batch 24 minta*	Két batch 48 minta*	Négy batch 96 minta*
Eldobható szűrős- pipettahegyek, 200 µl†‡	24	48	96
Eldobható szűrős- pipettahegyek, 1500 µl†‡	64	120	232
Minta előkészítő cartridge- ok§	15	30	60
8-rúd burkolat¶	3	6	12

* Ha kevesebb mint 24 mintát használ adagonként, csökkenti az eldobható pipettahegyek számát futásonként.

† 32 szűrős pipettahegy/szűrős pipettahegy rack.

‡ Reagens cartridge-onként a szükséges pipettahegyek száma 1 készletvizsgálatra elegendő pipettahegyet tartalmaz.

§ 28 mintaelőkészítő cartridge-ok/egység dobozok.

¶ 12 darab 8-rúd burkolatok/egység dobozok.

Protokoll circDNA_4000_DSP

Műanyag	Egy batch 24 minta*	Két batch 48 minta*	Négy batch 96 minta*
Eldobható szűrős- pipettahegyek, 200 µl†‡	24	48	96
Eldobható szűrős- pipettahegyek, 1500 µl†‡	104	200	392
Minta előkészítő cartridge- ok§	18	36	72
8-rúd burkolat¶	3	6	12

* Ha kevesebb mint 24 mintát használ adagonként, csökkenti az eldobható pipettahegyek számát futásonként.

† 32 szűrős pipettahegy/szűrős pipettahegy rack.

‡ Reagens cartridge-onként a szükséges pipettahegyek száma 1 készletvizsgálatra elegendő pipettahegyet tartalmaz.

§ 28 mintaelőkészítő cartridge-ok/egység dobozok.

¶ 12 darab 8-rúd burkolatok/egység dobozok.

Megjegyzés: A megadott pipettahegyek száma eltérhet az érintőképernyőn megjelenő számoktól a beállításoktól függően. Ajánlatos betölteni a lehető legtöbb tippet.

Elúciós térfogat

Kiválasztott elúciós térfogat	Kezdő elúciós térfogat
60 µl	75 µl

Az elúciós térfogatot az érintőképernyőn lehet kiválasztani. Az átlagos elúciós térfogat ≥ 60 µl. Egyes esetekben az egyes minták végső eluátum mennyisége akár 5 µl-rel is kevesebb lehet, mint a kiválasztott térfogat (például 55 µl). Javasoljuk az aktuális eluátum térfogatának ellenőrzését, amikor automatizált vizsgálati beállítási rendszert használ, amely nem igazolja az eluátum térfogatát az átvitel előtt.

Eluátumok tárolása

Javasolt az eluátum plate eltávolítása az "Eluátum" fiókból közvetlenül a Futtatás befejezése után. Az elúciós plate-ek a QIAasympyphony SP-ben maradhatnak, miután a futtatás egy éjszaka alatt befejeződik (maximum 16 óra, beleértve a futási időt is), javasolt környezeti feltételek: 18–26°C és 20–75% relatív páratartalom). A hőmérséklet és a páratartalom függvényében az eluátumban kondenzáció vagy párolgás következhet be.

A mintaelőkészítés után, az eluátumokat 2–8°C -on 1 hónapig tárolhatóak. Hosszabb idejű tároláshoz az eluátumokat –20°C vagy –80°C-on tároljuk. A fagyasztott eluátumokat 3 alkalomnál többször ne olvasszuk fel.

Kiindulási minta előkészítése

Kémiai anyagokkal történő munka során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, eldobható kesztyűt és védőszemüveget. További információ érdekében tájékozódjon a megfelelő biztonsági adatlapokból (safety data sheets, SDSs), melyek a terméket forgalmazóknál érhetők el.

A kezdés előtti fontos pontok

- Akadályozza meg a habképződést a mintában és a mintán.
- A mintákat a futtatás megkezdése előtt szobahőmérsékletre (15-25 ° C) kell tenni.

Humán plazma

Az EDTA-val vagy citrát antikoagulánssal kezelt vérminták felhasználhatók a plazmakészítéshez. A ccfDNS stabilizált vér-mintavételi csövekből nyert plazma szintén használható. A plazmát a gyártó határozza meg.

Ajánlatos a plazma szétválasztását azonnal a véradás után elvégezni, amikor EDTA-t vagy citrátot alkalmaznak antikoagulánsként.

Bizonyos downstream alkalmazásoknál szükség lehet a vezikulákból származó nukleinsavak kizárására vagy minimalizálására. Ilyen esetekben ajánlott nagysebességű centrifugálási lépést 16 000 x g-vel 10 percig szobahőmérsékleten (15-25 ° C) alkalmazni a kezdeti plazmaképzés után.

Begyűjtés és centrifugálás után a plazmát szobahőmérsékleten 7 napig és 2-8 °C-on 14 napig tárolhatjuk. Hosszabb tárolás esetén az alikvótokat -20 ° C-on vagy -80 ° C-os hőmérsékleten kell befagyasztani. A fagyasztott plazmát nem szabad több mint háromszor felengedni. Az ismételten fagyasztás-felengedés a fehérjék denaturálódásához és kicsapódásához vezet, ami potenciálisan csökkenti a keringő sejtmentes nukleinsavak mennyiségét. Ha a mintákban krioprecipitátumok láthatók, akkor centrifugálja 6,800x g-vel 3 percig szobahőmérsékleten (15-25°C), és vigye át a felülúszókat egy másodlagos mintavevő csőbe anélkül, hogy a pelleteket felkavarná (lásd az erőforrásban található laboratóriumi listát lap a termékoldalon a www.qiagen.com oldalon). Indítsa el azonnal a tisztítási eljárást.

Humán vizelet

A cirkuláló sejtmentes DNS gyors lebomlása miatt a vizeletgyűjtés után erősen ajánlott a vizelet minta azonnali stabilizálása.

Humán vizelet stabilizálása

A stabilizált vizelet szobahőmérsékleten (15-25 ° C) vagy 2-8 ° C-on 7 napig tárolható. Hosszabb tárolás esetén az alikvótokat -20 ° C-on vagy -80 ° C-os hőmérsékleten kell tárolni.

Stabilizált vizeletminták nem igényelnek minta előkezelést. A stabilizálás után ajánlatos kis sebességgel centrifugálni a vizeletmintákat (1900 x g) 10 percig szobahőmérsékleten (15-25 °C), hogy eltávolítsák a sejteket a cirkuláló sejtmentes DNS kivonása előtt. Ha a felülúszókban csapadék jelenik meg centrifugálás után, melegítsük fel a mintákat 25 ° C-ra egy vízfürdőben a csapadék feloldásához. Mielőtt elkezdené a futást, vigye át a stabilizált vizeletmintákat egy

másodlagos mintavevő csőbe, majd tölts be ezt a csövet a mintavevő hordozóra (lásd a laboratóriumi listát, amely a www.qiagen.com termékoldal erőforrás lapján található).

Humán vizelet “nem-stabilizált”

Mielőtt elkezdené a protokollt, amelyhez ATL puffer szükséges, ellenőrizze, hogy kialakult-e csapadék az ATL pufferben. Szükség esetén oldjuk fel 70 ° C-on meleg vízben, enyhe keveréssel. A buborékokat távolítsuk el az ATL puffer felületéről.

Megjegyzés: ATL puffer (ATL puffer, 4 x 50 ml, kat.szám 939016) nem a QIAasympphony DSP Circulating DNA Kit része, külön rendelhető.

Ajánlatos a vizeletmintákat centrifugálni közvetlenül a gyűjtés után kis sebességgel (1900 x g) 10 percig szobahőmérsékleten (15-25°C) a sejtek eltávolítása céljából. A nem stabilizált vizeletminták minta előkezelést igényelnek.

Fontos: A mintákat az előkezelés megkezdése előtt tartsuk szobahőmérsékleten (15-25 ° C).

Fontos: A centrifugálást és az előkezelést a vizelet mintavételétől számított 4 órán belül kell elvégezni.

- Keverjen össze 2500 µl vizeletet (circDNA_2000_DSP) vagy 4500 µl vizeletet (circDNA_4000_DSP) 250 µl vagy 450 µl ATL pufferrel.
- Inkubálja a mintákat szobahőmérsékleten (15–25°C) 1 óra hosszáig.
- Centrifugálja a mintákat 1900 x g 10 percig, szobahőmérsékleten (15–25°C).
Ha a csapadékot a felülúszóban centrifugálás után is látjuk, melegítsük fel a mintákat 25 °C-ra vízfürdőben, hogy kicsapjuk a csapadékot.
- A felülúszókat vigye át egy másodlagos mintavevő csőbe, majd ezt a csövet tölts be a mintatartóba (lásd a www.qiagen.com termékoldal forrásfűlén található laboratóriumi listáját).

Fontos: A cirkuláló sejtmentes DNS stabilitása és integritása nem stabilizált vizeletben korlátozott. Javasoljuk, hogy maximum 24 mintát töltsön be QIAasympphony futásonként, hogy minimalizálja a vizeletminta készülékben töltött időtartamát.

Zavaró anyagok

A plazmamintákban lévő nagy koncentrációjú gamma-globulin (>30 g/l) a cirkuláló sejtmentes DNS csökkent kinyeréséhez vezethet.

A legfrissebb licenc feltételekért és termék specifikációért tekintse át a szóban forgó QIAGEN kit kézikönyvét vagy használati útmutatóját, melyet a www.qiagen.com weboldalon érhet el vagy a QIAGEN Műszaki Szervizétől, vagy helyi forgalmazójától.

Védjegyek: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAasympfony® (QIAGEN Group). Jelen dokumentumban használt bejegyzett elnevezések, védjegyek stb. törvény által védettnek tekintendők még akkor is, ha specifikusan ez nincs feltüntetve.
02/2017 HB-2309-S01-001
© 2017 QIAGEN, minden jog fenntartva.

