

QIASymphony SP Protokollblatt

Protokoll: DNA_Buffy_Coat_200_V7_DSP

Allgemeine Informationen

Für in-vitro-diagnostische Anwendungen.

Dieses Protokoll ist für die Reinigung von genomischer Gesamt-DNA und mitochondrialer DNA aus frischem oder gefrorenem Buffy Coat mithilfe des QIASymphony® SP und des QIASymphony DSP DNA Mini Kits vorgesehen.

Kit	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (Kat.-Nr. 937236)
Probenmaterial	Buffy Coat (mit EDTA, Citrat oder Heparin als Antikoagulans)
Protokollname	DNA_BC_200_V7_DSP
Standard-Assay-Kontroll-Set	ACS_BC_200_V7_DSP
Editierbare Parameter	Elutionsvolumen: 200 µl, 300 µl, 400 µl
Erforderliche Software-Version	Version 4.0

September 2012



Sample & Assay Technologies

„Sample“-Schublade

Probentyp	Buffy Coat (mit EDTA, Citrat oder Heparin als Antikoagulans)
Probenvolumen	Hängt vom verwendeten Probenröhrchen-Typ ab; weitere Informationen siehe www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Primärprobenröhrchen	n. z.
Sekundärprobenröhrchen	Weitere Informationen siehe www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Einsätze	Hängt vom verwendeten Probenröhrchen-Typ ab; weitere Informationen siehe www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

n. z. = nicht zutreffend

„Reagents and Consumables“-Schublade

Position A1 und/oder A2	Reagenzienkartusche
Position B1	n. z.
Tip-Rack-Halter 1–17	Einmal-Filterpipettenspitzen, 200 µl oder 1500 µl
Container-Halter 1–4	Container mit Probenverarbeitungs-Einsätzen oder 8-Magnetstab-Schutzhülsen

n. z. = nicht zutreffend

„Waste“-Schublade

Container-Halter 1–4	Leere Verbrauchsartikel-Container
Abfallbeutel-Halter	Abfallbeutel
Flüssigabfallflaschen-Halter	Leere Flüssigabfallflasche

„Eluate“-Schublade

Elutions-Rack (wir empfehlen, Weitere Informationen siehe
Stellplatz 1 – die Kühlposition – www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.
zu verwenden)

Benötigte Kunststoff-Verbrauchsartikel

	Eine Proben- Charge, 24 Proben*	Zwei Proben- Chargen, 48 Proben*	Drei Proben- Chargen, 72 Proben*	Vier Proben- Chargen, 96 Proben*
Einmal-Filterpipet- tenspitzen, 200 μ l†‡	2	2	2	2
Einmal-Filterpipet- tenspitzen, 1500 μ l†‡	110	212	314	416
Probenverarbeitungs- Einsätze§	18	36	54	72
8-Magnetstab- Schutzhülsen¶	3	6	9	12

* Bei Verarbeitung von weniger als 24 Proben pro Charge verringert sich die Anzahl der pro Lauf benötigten Einmal-Filterpipettenspitzen entsprechend.

† Ein Tip-Rack enthält 32 Filter-Pipettenspitzen.

‡ Bei der Anzahl der benötigten Filter-Pipettenspitzen sind die Spitzen für einen Inventar-Scan pro Reagenzienkartusche berücksichtigt.

§ Ein Verbrauchsartikel-Container enthält 28 Probenverarbeitungs-Einsätze.

¶ Ein Verbrauchsartikel-Container enthält zwölf 8-Magnetstab-Schutzhülsen.

Hinweis: Die angegebene Anzahl Filter-Pipettenspitzen kann, in Abhängigkeit von den Einstellungen, von der im Touchscreen-Display angezeigten Anzahl abweichen. Wir empfehlen, die maximal mögliche Anzahl Pipettenspitzen zu laden.

Elutionsvolumen

Das Elutionsvolumen wird im Touchscreen-Display ausgewählt. In Abhängigkeit von Probenart und DNA-Gehalt kann das endgültige Eluatvolumen um bis zu 15 μ l kleiner sein als das gewählte Volumen. Aufgrund der Tatsache, dass das Eluatvolumen variieren kann, empfehlen wir, das tatsächliche Eluatvolumen zu kontrollieren, wenn Sie ein automatisiertes System für das Assay-Setup verwenden, bei dem das Eluatvolumen nicht vor dem Transfer bestimmt wird. Bei Elution in geringeren Volumina erhöht sich die DNA-Endkonzentration, jedoch verringert sich dadurch die Ausbeute etwas. Wir empfehlen, ein Elutionsvolumen zu verwenden, das für die vorgesehene nachfolgende Applikation geeignet ist.

Vorbereitung des Probenmaterials

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Schutzhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheits-Datenblättern (*Material Safety Data Sheets, MSDS*) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

Wichtiger Hinweis vor Beginn

- Sofern RNA in der Probe vorhanden ist, wird sie von den QIASymphony Magnet-Partikeln evtl. mitgereinigt. Um den RNA-Gehalt in der Probe zu minimieren, geben Sie RNase A in die Probe, bevor Sie mit der Präparation beginnen. Die RNase-A-Endkonzentration sollte 2 mg/ml betragen.

Buffy Coat

Buffy Coat bezeichnet eine Fraktion des Vollbluts, in der die Leukozyten angereichert sind. Die Effizienz der Leukozytenanreicherung hängt vom jeweiligen Verfahren ab, nach dem der Buffy Coat präpariert wird, und von der Präzision, mit der die Buffy-Coat-Schicht aus dem Zentrifugenröhrchen entnommen wird. Präparieren Sie den Buffy Coat aus Vollblutproben, die ein Standard-Antikoagulans (EDTA, Citrat oder Heparin) enthalten, durch Zentrifugation bei 900–1100 x g für 10 Minuten bei Raumtemperatur (15–25 °C). Nach der Zentrifugation lassen sich drei Fraktionen unterscheiden: die obere klare Schicht, das Plasma, die mittlere Schicht mit den angereicherten Leukozyten, der Buffy Coat, und die untere Schicht, die aus den konzentrierten Erythrozyten besteht. Aus 10 ml zentrifugiertem Vollblut sollte ca. 1 ml leukozytenhaltige Fraktion gewonnen werden, was, im Durchschnitt, einer 5- bis 6-fachen Anreicherung entspricht. Beispiel: 10 ml Vollblut mit einer Leukozytenzahl von 6×10^6 Zellen/ml ergibt 1 ml Buffy Coat. Unter der Annahme einer 5-fachen Anreicherung der Leukozyten entspricht dies 3×10^7 Zellen/ml. Bei einem Protokoll mit 200 μ l Buffy Coat als Ausgangsmaterial werden also 6×10^6 Zellen eingesetzt.

Buffy-Coat-Proben mit mehr als 10-facher Anreicherung sollten nicht verwendet werden, um die Beladungskapazität des DNA-Reinigungsverfahrens nicht zu überschreiten. Falls Buffy-Coat-Proben mehr als 10-fach angereichert sind, verdünnen Sie die Proben entsprechend (auf 10-fache Anreicherung oder geringer) mit PBS oder setzen Sie weniger Ausgangsmaterial für das DNA-Reinigungsprotokoll ein.

Buffy-Coat-Proben können direkt eingesetzt oder bei –20 °C oder –70 °C gelagert werden, wenn die DNA zu einem späteren Zeitpunkt gereinigt werden soll. Gefrorene Proben sollten zügig in einem Wasserbad bei 37 °C aufgetaut werden; dabei sollten sie leicht geschüttelt werden, um gründliches Mischen sicherzustellen. Lassen Sie sie dann auf Raumtemperatur (15–25 °C) äquilibrieren, bevor Sie mit der Präparation beginnen. Vermeiden Sie Schaumbildung in den Probenröhrchen, um einen zuverlässigen Probentransfer sicherzustellen. Blutgerinnsel in den Proben sollten vermieden werden; falls erforderlich, überführen Sie die Probe ohne Gerinnsel in ein neues Röhrchen.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Anwendungseinschränkungen finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit- oder Geräte-Handbuch. QIAGEN Kit- und Geräte-Handbücher stehen unter www.qiagen.com zur Verfügung oder können Sie vom QIAGEN Technischen Service oder dem für Sie zuständigen Außendienstmitarbeiter oder Distributor anfordern.

Warenzeichen/Markennamen: QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN-Gruppe). Es kann nicht davon ausgegangen werden, dass die in diesem Dokument verwendeten Markennamen oder Warenzeichen ungeschützt sind, auch wenn sie nicht als Markenname oder Warenzeichen gekennzeichnet sind.
© 2012 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

www.qiagen.com

Australia ■ 1-800-243-800

Austria ■ 0800/281010

Belgium ■ 0800-79612

Canada ■ 800-572-9613

China ■ 021-51345678

Denmark ■ 80-885945

Finland ■ 0800-914416

France ■ 01-60-920-930

Germany ■ 02103-29-12000

Hong Kong ■ 800 933 965

Ireland ■ 1800 555 049

Italy ■ 800 787980

Japan ■ 03-5547-0811

Korea (South) ■ 1544 7145

Luxembourg ■ 8002 2076

The Netherlands ■ 0800 0229592

Norway ■ 800-18859

Singapore ■ 65-67775366

Spain ■ 91-630-7050

Sweden ■ 020-790282

Switzerland ■ 055-254-22-11

UK ■ 01293-422-911

USA ■ 800-426-8157



Sample & Assay Technologies