

# QIASymphony SP-protokollblad

---

## DNA\_Buffy\_Coat\_200\_V7\_DSP-protokoll

### Allmän information

För in vitro-diagnostisk användning.

Detta protokoll är avsett för rening av totalt genomiskt och mitokondriellt DNA från färsk eller fryst buffy-coat med användning av QIASymphony® SP och QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

<b>Kit</b>	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (kat. nr 937236)
<b>Provmaterial</b>	Buffy-coat (antikoagulerad med EDTA, citrat eller heparin)
<b>Protokollnamn</b>	DNA_BC_200_V7_DSP
<b>Förvald analyskontrolluppsättning</b>	ACS_BC_200_V7_DSP
<b>Redigerbar</b>	Elueringsvolym: 200 µl, 300 µl, 400 µl
<b>Nödvändig programversion</b>	Version 4.0

September 2012



---

Sample & Assay Technologies

## Lådan "Sample" (prov)

<b>Provtyp</b>	Buffy-coat (antikoagulerad med EDTA, citrat eller heparin)
<b>Provolym</b>	Beror på vilken typ av provrör som används. Se <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> för mer information.
<b>Primära provrör</b>	Ej relevant
<b>Sekundära provrör</b>	Se <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> för mer information.
<b>Insatser</b>	Beror på vilken typ av provrör som används. Se <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> för mer information.

n/a = ej relevant.

## Lådan "Reagents and Consumables" (reagens och förbrukningsmaterial)

<b>Position A1 och/eller A2</b>	Reagenskasset
<b>Position B1</b>	Ej relevant
<b>Spetsrackhållare 1-17</b>	Engångsfilterspetsar, 200 $\mu$ l eller 1 500 $\mu$ l
<b>Hållare för enhetslådor 1-4</b>	Enhetslådor som innehåller provprepareringskassetter eller 8-stavsskydd

n/a = ej relevant.

## Lådan "Waste" (avfall)

<b>Hållare för enhetslådor 1-4</b>	Tomma enhetsaskar
<b>Avfallspåshållare</b>	Avfallspåse
<b>Flaskhållare för flytande avfall</b>	Tom flaska för flytande avfall

## Lådan "Eluate" (eluat)

Elueringsställ (vi rekommenderar att uttag 1, kylpositionen, används)

Se [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks) för mer information.

## Erforderliga plastartiklar

	En batch, 24 prover*	Två batcher, 48 prover*	Tre batcher, 72 prover*	Fyra batcher, 96 prover*
Engångs- filterspetsar, 200 µl <sup>††</sup>	2	2	2	2
Engångs- filterspetsar, 1 500 µl <sup>††</sup>	110	212	314	416
Provprepareringskassetter <sup>§</sup>	18	36	54	72
8-stavsskydd <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* Om färre än 24 prover per batch används minskas antalet engångsfilterspetsar som krävs per körning.

<sup>†</sup> Det finns 32 filterspetsar/spetsställ.

<sup>††</sup> Antalet filterspetsar som krävs inbegriper filterspetsar för 1 inventerande skanning per reagenskasset.

<sup>§</sup> Det finns 28 provprepareringskassetter/enhetslåda.

<sup>¶</sup> Det finns tolv 8-stavsskydd/enhetslåda.

**Obs!** Beroende på inställningarna kan antalet givna filterspetsar skilja sig från de siffror som visas på pekskärmen. Vi rekommenderar att det maximala antalet spetsar laddas.

## Elueringsvolym

Elueringsvolymen väljs på pekskärmen. Beroende på provtyp och DNA-innehåll kan den slutliga eluatvolymen variera med upp till 15 µl mindre än den valda volymen. Eftersom eluatvolymen kan variera rekommenderar vi att du kontrollerar den faktiska eluatvolymen vid användning av ett automatiserat analysinställningssystem som inte verifierar eluatvolymen innan överföringen. Eluering i lägre volymer ökar den slutliga DNA-koncentrationen, men reducerar mängden något. Vi rekommenderar att du använder en elueringsvolym som är lämplig för den avsedda nedströmstillämpningen.

# Förberedelse av provmaterial

Använd alltid lämplig laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Om du vill ha mer information hänvisas till tillämpliga säkerhetsdatablad (SDS) som kan erhållas från produktleverantören.

## Viktigt moment före start

- QIASymphony-magnetpartiklar kan samtidigt rena RNA om det finns i provet. För att minimera RNA-innehållet i provet tillsätter du RNase A till provet innan proceduren inleds. Den slutliga RNase A-koncentrationen ska vara 2 mg/ml.

## Buffy-coat

Buffy-coat är en leukocytberikad fraktion av helblod. Leukocytberikningens effektivitet beror på vilken metod som använts för att bereda buffy-coat och med vilken noggrannhet som buffy-coat-skiktet extraheras. Bered buffy-coat genom att centrifugera helblodprover som innehåller en standardantikoagulant (EDTA, citrat eller heparin) vid 900–1 100 x g i 10 minuter vid rumstemperatur (15–25 °C). Efter centrifugering kan 3 olika fraktioner urskiljas: det övre, genomskinliga skiktet är plasma, mellanskiktet är buffy-coat som innehåller koncentrerade leukocyter, och bottenskiktet innehåller koncentrerade erythrocyter. Cirka 1 ml fraktion med leukocyter ska skördas från 10 ml centrifugerat helblod, vilket i genomsnitt ger en berikning på 5–6 gånger. Exempelvis resulterar 10 ml helblod med ett antal vita blodceller på  $6 \times 10^6$  celler/ml i 1 ml buffy-coat. Förutsatt en 5 gångers berikning av vita blodceller leder detta till  $3 \times 10^7$  celler/ml. I ett protokoll där man använder 200 µl buffy-coat kommer därför  $6 \times 10^6$  celler att användas.

För att undvika att överbelasta DNA-reningsproceduren ska du inte bereda buffy-coat-prover med en berikning på >10 gånger. Om buffy-coat-prover har en berikning på >10 gånger späder du proven till en berikning på 10 gånger eller mindre med PBS eller använder mindre startmaterial i DNA-reningsproceduren.

Buffy-coat-prover kan användas omedelbart eller förvaras vid –20 °C eller –70 °C för rening av DNA vid ett senare tillfälle. Frysta prover ska tinas snabbt i ett vattenbad på 37 °C med lätt omrörning för att säkerställa en noggrann blandning och därefter utjämnas till rumstemperatur (15–25 °C) innan proceduren inleds. För att säkerställa en pålitlig provöverföring bör skumbildning i provrören undvikas. Försök att undvika blodklumpar i proven och överför vid behov provet utan klumpar till ett nytt rör.

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler: se respektive QIAGEN-satshandbok eller användarhandbok. Handböcker och användarhandböcker för QIAGEN-satser finns på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan beställas från QIAGENS tekniska support eller från lokal distributör.

Varumärken: QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN-gruppen). Registrerade namn, varumärken osv. som används i detta dokument, även när de inte uttryckligen har markerats som sådana, får inte betraktas som oskyddade i lag.

© 2012 QIAGEN, med ensamrätt.

**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**