

QIAsymphony® DSP DNA Midi Kit Gebrauchsanweisung (Protokollblatt)

DNA_Buffy_Coat_400_V6 DSP Protokoll

Version 2



In-vitro-Diagnostikum

Zur Verwendung mit dem QIAsymphony DSP DNA Midi Kit (96)



937255



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Deutschland

R1

Das Protokollblatt ist elektronisch unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar.

Allgemeine Informationen

Das QIASymphony DSP DNA Kit ist für den in-vitro-diagnostischen Gebrauch vorgesehen.

Dieses Protokoll dient zur Aufreinigung der gesamten genomischen und mitochondrialen DNA aus frischem oder gefrorenem humanem Vollblut unter Verwendung des QIASymphony SP und des QIASymphony DSP DNA Midi Kit.

| | |
|--|---|
| Kit | QIASymphony DSP DNA Midi Kit (Kat.-Nr. 937255) |
| Probenmaterial | Buffy-Coat (antikoaguliert mit EDTA, Citrat oder Heparin) |
| Protokollbezeichnung | DNA_BC_400_V6_DSP |
| Standard-Assay-Kontroll-Set | ACS_BC_400_V6_DSP |
| Editierbar | Elutionsvolumen: 200 und 400 µl |
| Erforderliche Softwareversion | Version 4.0 oder höher |
| Erforderliche Softwarekonfiguration zur IVD-Verwendung | Standardprofil 1 |

Schublade „Sample“ (Probe)

| | |
|------------------------|---|
| Probentyp | Humanes Vollblut (antikoaguliert mit EDTA, Citrat oder Heparin) |
| Probenvolumen | Abhängig vom verwendeten Probenröhrchentyp. Weitere Informationen siehe die Labormaterialliste, die unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar ist. |
| Primärprobenröhrchen | n. z. |
| Sekundärprobenröhrchen | Weitere Informationen siehe die Labormaterialliste, die unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar ist. |
| Einsätze | Abhängig vom verwendeten Probenröhrchentyp. Weitere Informationen siehe die Labormaterialliste, die unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar ist. |

n. z. = nicht zutreffend

Schublade „Reagents and Consumables“ (Reagenzien und Verbrauchsmaterialien)

| | |
|--|--|
| Position A1 und/oder A2 | Reagenzienkartusche (RC) |
| Position B1 | n. z. |
| Halter für Spitzenracks, Positionen 1-17 | Einmal-Filterspitzen, 200 oder 1500 µl |
| Halter für Verbrauchsartikel-Container 1-4 | Verbrauchsartikel-Container enthalten Probenvorbereitungskartuschen oder 8-Rod Covers. |

n. z. = nicht zutreffend

Schublade „Waste“ (Abfall)

| | |
|---|-------------------------------------|
| Halter für Verbrauchsartikel-Container 1-4 | Leercontainer für Verbrauchsartikel |
| Halter für Abfallbeutel | Abfallbeutel |
| Halter für Flüssigabfallbehälter | Leerer Flüssigabfallbehälter |

Schublade „Eluate“ (Eluat)

Elutionsracks (wir empfehlen die Verwendung von Platz 1, Kühlposition)

Weitere Informationen siehe die Labormaterialliste, die unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar ist.

Erforderliche Kunststoff-Verbrauchsartikel

| Kunststoff-Verbrauchsartikel | Eine Charge 24 Proben* | Zwei Chargen 48 Proben* | Drei Chargen 72 Proben* | Vier Chargen 96 Proben* |
|--|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Disposable filter-tips, 200 µl [†] | 4 | 4 | 4 | 8 |
| Disposable filter-tips, 1500 µl [†] | 110 | 212 | 314 | 424 |
| Sample prep cartridges [§] | 18 | 36 | 54 | 72 |
| 8-Rod Covers [¶] | 3 | 6 | 9 | 12 |

* Bei Verwendung von weniger als 24 Proben je Charge verringert sich die Anzahl der pro Lauf benötigten Einmal-Filterspitzen.

[†] Jedes Spitzenrack enthält 32 Filterspitzen.

[‡] Bei der Zahl der erforderlichen Filterspitzen sind die für 1 Inventar-Scan pro RC benötigten Filterspitzen berücksichtigt.

[§] Ein Verbrauchsartikel-Container enthält 28 Probenvorbereitungskartuschen.

[¶] Ein Verbrauchsartikel-Container enthält zwölf 8-Rod Covers.

Hinweis: Die angegebene Anzahl von Filterspitzen kann je nach Einstellung von der auf dem Touchscreen angezeigten Anzahl abweichen. Wir empfehlen, die höchstmögliche Anzahl von Spitzen zu laden.

Elutionsvolumen

Das Elutionsvolumen wird auf dem Touchscreen ausgewählt. Das finale Eluatvolumen kann abhängig von Probentyp und DNA-Gehalt bis zu 15 µl weniger als das ausgewählte Volumen betragen. Da das Eluatvolumen variieren kann, empfehlen wir bei Verwendung eines automatisierten Assay-Einrichtungssystems, welches das Eluatvolumen vor der Überführung nicht überprüft, das tatsächliche Eluatvolumen zu kontrollieren. Die Elution in geringeren Volumen steigert die DNA-Endkonzentration, reduziert die Ausbeute jedoch leicht. Wir empfehlen die Verwendung eines für die vorgesehene nachgelagerte Anwendung geeigneten Elutionsvolumens.

Vorbereitung des Probenmaterials

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien stets einen geeigneten Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern (Safety Data Sheets, SDS) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

Allgemeine Empfehlungen für Entnahme, Transport und Lagerung sind der genehmigten CLSI-Richtlinie MM13-A „Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods“ zu entnehmen. Darüber hinaus ist bei Vorbereitung, Lagerung, Transport und allgemeiner Handhabung der Proben die Gebrauchsanweisung des Herstellers der ausgewählten Probenentnahmeverrichtung zu beachten.

Buffy-Coat

Buffy-Coat ist eine Fraktion von Vollblut mit angereicherten Leukozyten. Die Effizienz der Leukozyten-Anreicherung ist abhängig von dem zur Gewinnung des Buffy-Coat eingesetzten Verfahren und der Präzision der Extraktion der Buffy-Coat-Schicht. Um Buffy-Coat zu gewinnen, zentrifugieren Sie mit Standard-Antikoagulans (EDTA, Citrat oder Heparin) behandelte Vollblutproben 10 Minuten lang bei Raumtemperatur (15–25 °C) und 900–1100 x g. Nach der Zentrifugation sind 3 verschiedene Fraktionen erkennbar: bei der oberen, klaren Schicht handelt es sich um Plasma, bei der mittleren Schicht um Buffy-Coat mit den angereicherten Leukozyten, und die untere Schicht enthält angereicherte Erythrozyten. Je 10 ml zentrifugiertem Vollblut sollte etwa 1 ml Leukozyten-haltige Fraktion gewonnen werden, was im Durchschnitt einer 5–6-fachen Anreicherung entspricht. 10 ml Vollblut mit einer Leukozytenzahl von 6×10^6 Zellen/ml ergeben beispielsweise 1 ml Buffy-Coat. Bei Annahme einer 5-fachen Anreicherung der weißen Blutzellen werden 3×10^7 Zellen/ml erhalten. Somit werden in einem Protokoll, das mit 400 µl Buffy-Coat arbeitet, $1,2 \times 10^7$ Zellen verwendet.

Um eine Überbeladung des Protokolls zur DNA-Aufreinigung zu vermeiden, stellen Sie keine Buffy-Coat-Proben mit einer > 10-fachen Anreicherung her. Liegt bei Buffy-Coat-Proben eine > 10-fache Anreicherung vor, verdünnen Sie die Proben mit PBS auf 10-fache Anreicherung oder weniger oder arbeiten Sie mit weniger Ausgangsmaterial für das Verfahren zur DNA-Aufreinigung.

Buffy-Coat-Proben können sofort verwendet oder für die Aufreinigung der DNA zu einem späteren Zeitpunkt bei –20 °C oder –80 °C aufbewahrt werden. Gefrorene Proben sind zügig in einem Wasserbad bei 37 °C unter leichter Bewegung aufzutauen, um eine gründliche Durchmischung sicherzustellen. Vor Beginn des Verfahrens sind sie auf Raumtemperatur (15–25°C) zu äquilibrieren. Vermeiden Sie Schaumbildung in den Probenröhrchen, um eine zuverlässige Probenüberführung zu gewährleisten. Versuchen Sie, Blutgerinnsel in den Proben zu vermeiden, und überführen Sie falls nötig die Probe ohne Gerinnsel in ein frisches Röhrchen.

Hinweis: Die Probenstabilität ist stark von verschiedenen Faktoren abhängig und mit der spezifischen nachgelagerten Anwendung verbunden. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Gebrauchsanweisung der spezifischen, im Labor eingesetzten nachgelagerten Anwendung zurate zu ziehen und/oder den gesamten Arbeitsablauf zu validieren, um geeignete Lagerungsbedingungen zu ermitteln.

Lagerung von Eluaten

Es wird empfohlen, die Eluatplatte unmittelbar nach Abschluss des Laufs aus der Schublade „Eluate“ (Eluat) zu entnehmen. Elutionsplatten können nach Abschluss eines Laufs über Nacht im QIASymphony SP verbleiben (maximal 12 Stunden einschließlich Laufzeit; empfohlene Umgebungsbedingungen: 18–26 °C bei 20–75 % relativer Luftfeuchtigkeit). Je nach Temperatur und Luftfeuchtigkeit kann es im Eluat zu Kondensation oder Verdunstung kommen.

Für eine kurzfristige Lagerung können die Eluate bis zu 2 Wochen lang bei Raumtemperatur aufbewahrt werden. Für eine langfristige Lagerung empfehlen wir die Aufbewahrung bei 2–8 °C, –20 °C oder –80 °C. Gefrorene Eluate dürfen nicht mehr als dreimal aufgetaut werden.

Hinweis: Die Eluatstabilität ist stark von verschiedenen Faktoren abhängig und mit der spezifischen nachgelagerten Anwendung verbunden. Sie wurde für das QIASymphony DSP DNA Midi Kit in Verbindung mit beispielhaften nachgelagerten Anwendungen ermittelt. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Gebrauchsanweisung der spezifischen, im Labor eingesetzten nachgelagerten Anwendung zurate zu ziehen und/oder den gesamten Arbeitsablauf zu validieren, um geeignete Lagerungsbedingungen zu ermitteln.

Wichtiger Hinweis, der vor der Durchführung zu beachten ist

- Die QIASymphony Magnetpartikel können RNA mit aufreinigen, wenn diese in der Probe enthalten ist. Um den RNA-Gehalt in der Probe zu minimieren, geben Sie der Probe vor Beginn des Verfahrens RNase A zu. Die Endkonzentration an RNase A muss 2 mg/ml betragen.

Grenzen des Assays und Störsubstanzen





Blutproben mit hohen Konzentrationen an Triglyceriden (> 30 g/l) können zu einer geringeren gDNA-Ausbeute führen.

Hinweis: Die Tests wurden anhand beispielhafter nachgelagerter Anwendungen durchgeführt, um die Qualität der extrahierten Nukleinsäuren zu beurteilen. Verschiedene nachgelagerte Anwendungen können jedoch unterschiedliche Anforderungen an die Reinheit stellen (d. h. Abwesenheit potenzieller Störsubstanzen). Aus diesem Grund müssen auch die Identifizierung und das Testen relevanter Substanzen im Rahmen der Entwicklung nachgelagerter Anwendungen für jeden Workflow mit dem QIASymphony DSP DNA Midi Kit etabliert werden.

Hinweis: Es ist zu beachten, dass im Rahmen der Entwicklung des QIASymphony DSP DNA Midi Kit keine Hinweise darauf beobachtet wurden, dass Heparin sich negativ auf die Leistung auswirkt. Gemäß ISO 20186-2:2019(E) kann Heparin aus Blutentnahmeröhrchen die Reinheit der isolierten Nukleinsäuren beeinträchtigen und eine mögliche Verschleppung in die Eluate könnte bei einigen nachgelagerten Anwendungen zu Inhibitionen führen. Aus diesem Grund liegt es in der Verantwortung des Anwenders, zu validieren, ob Heparin negative Auswirkungen auf den jeweiligen Workflow hat.

Symbole

Die folgenden Symbole werden in diesem Dokument verwendet. Eine vollständige Liste der in der Gebrauchsanweisung oder auf Verpackung und Etikettierung verwendeten Symbole finden Sie im Handbuch.

| Symbol | Bedeutung des Symbols |
|---|--|
|  | Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der europäischen Verordnung 2017/746 über In-vitro-Diagnostika. |
|  | In-vitro-Diagnostikum |
|  | Katalognummer |
| Rn | R steht für Revision der Gebrauchsanweisung, n ist die Revisionsnummer |
|  | Hersteller |

Bearbeitungsverlauf

| Revision | Beschreibung |
|---------------|--|
| R1, Juni 2022 | Version 2, Revision 1 <ul style="list-style-type: none"><li data-bbox="619 378 1203 404">• Aktualisierung auf Version 2 für Konformität mit IVD<li data-bbox="619 417 1406 442">• Hinzufügung des Abschnitts „Grenzen des Assays und Störsubstanzen“<li data-bbox="619 455 1203 480">• Hinzufügung des Abschnitts „Lagerung von Eluaten“<li data-bbox="619 493 1070 519">• Hinzufügung des Abschnitts „Symbole“<li data-bbox="619 532 1350 557">• Aktualisierung des Abschnitts „Vorbereitung des Probenmaterials“ |

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Haftungsausschlüsse finden Sie im jeweiligen QIAGEN® Kit-Handbuch oder Benutzerhandbuch. QIAGEN Kit-Handbücher und Benutzerhandbücher sind unter www.qiagen.com verfügbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder Ihrem örtlichen Händler angefordert werden.

Marken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt. 06/2022 HB-3029-S05-001 © 2022 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.