

Desember 2017

QIAsymphony[®] SP protokollark

DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP protokoll

Dette dokumentet er DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP QIAsymphony SP protokollark, R3, for QIAsymphony DSP DNA Mini Kit, versjon 1.

Generell informasjon

QIASymphony DSP DNA Kit er beregnet for bruk i in vitro-diagnostikk.

Denne protokollen er for rensing av totalt genomisk og mitokondrialt DNA fra fersk eller fryst buffy coat ved hjelp av QIASymphony SP og QIASymphony DSP DNA Midi Kit.

Sett	QIASymphony DSP DNA Midi Kit (kat.nr. 937255)
Prøvemateriale	Buffy coat (EDTA, sitrat eller heparin, antikoagulert)
Protokollnavn	DNA_BC_400_V6_DSP
Standard analysekontrollsett	ACS_BC_400_V6_DSP
Redigerbar	Elueringsvolum: 200 µl, 400 µl
Nødvendig programvareversjon	Versjon 4.0 eller høyere

Skuffen "Sample" (Prøve)

Prøvetype	Buffy coat (EDTA, sitrat eller heparin, antikoagulert)
Prøvevolum	Avhenger av typen prøverør som brukes. Mer informasjon finnes på www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Primære prøverør	ikke relevant
Sekundære prøverør	Mer informasjon finnes på www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Innlegg	Avhenger av typen prøverør som brukes. Mer informasjon finnes på www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

n/a = ikke relevant.

Skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbruksartikler)

Posisjon A1 og/eller A2	Reagenskassett
Posisjon B1	ikke relevant
Spisstativholder 1-17	Engangsfilterspisser, 200 µl eller 1500 µl
Enhetsbokholder 1-4	Enhetsbokser inneholder prøveklargjøringskassetter eller 8-stangdeksler

n/a = ikke relevant.

Skuffen "Waste" (Avfall)

Enhetsbokholder 1-4	Tomme enhetsbokser
Avfallsposeholder	Avfallspose
Holder for væskeavfallsflaske	Tom væskeavfallsflaske

Skuffen "Eluate" (Eluat)

Elusjonsstativ (vi anbefaler bruk av åpning 1, nedkjølingsposisjon)

Mer informasjon finnes på www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Nødvendige plastdeler

	Ett parti, 24 prøver*	To partier, 48 prøver*	Tre partier, 72 prøver*	Fire partier, 96 prøver*
Filterspisser til engangsbruk, 200 µl ^{†‡}	4	4	4	8
Filterspisser til engangsbruk, 1500 µl ^{†‡}	110	212	314	424
Prøveklargjøringskassetter [§]	18	36	54	72
8-stangdeksler [¶]	3	6	9	12

* Bruk av mindre enn 24 prøver per omgang reduserer antall filterspisser til engangsbruk som kreves per kjøring.

[†] Det er 32 filterspisser/spisstativ.

[‡] Antall påkrevde filterspisser omfatter filterspisser for 1 beholdningskanning per reagenskasset.

[§] Det er 28 prøveklargjøringskassetter/enhetseske.

[¶] Det er tolv 8-stangdeksler/enhetseske.

Merk: Antall angitte filterspisser kan avvike fra antallene vist på berøringskjermen avhengig av innstillinger. Vi anbefaler å laste maksimalt antall mulig spisser.

Elueringsvolum

Elusjonsvolumet velges på berøringskjermen. Avhengig av prøvetype og DNA-innhold kan endelig eluatvolum variere med inntil 15 µl mindre enn valgt volum. Fordi eluatvolumet kan variere, anbefaler vi å kontrollere det faktiske eluatvolumet ved bruk av et automatisk analyseoppsettssystem som ikke verifiserer eluatvolumet før overføringen. Eluering i lavere volumer øker den endelige DNA-konsentrasjonen, men reduserer utbyttet en aning. Vi anbefaler å bruke et elueringsvolum egnet for den tiltenkte nedstrømsapplikasjon.

Klargjøring av prøvematerialer

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablad (safety data sheet, SDS) som leveres av leverandøren av produktet, hvis du ønsker mer informasjon.

Viktige punkter før du starter

- QIA Symphony magnetiske partikler kan korense RNA hvis det er til stede i prøven. Tilsett RNase A til prøven før prosedyren startes for å minimere RNA-innholdet. Endelig RNase A-konsentrasjon skal være 2 mg/ml.

Buffy coat

Buffy coat er en leukocytberiket fraksjon av fullblod. Effektiviteten til leukocytberikning er avhengig av prosedyren som brukes for å klargjøre buffy coat og med hvilken nøyaktighet buffy coat-laget blir ekstrahert. Klargjør buffy coat ved å sentrifugere fullblodsprøver med et standard antikoagulerende middel (EDTA, citrat eller heparin) ved 900–1100 x g i 10 minutter ved romtemperatur (15–25 °C). Etter sentrifugering kan 3 forskjellige fraksjoner skilles: Det øvre klare laget er plasma, det midtre laget er buffy coat, med konsentrerte leukocytter, og det nedre laget inneholder konsentrerte erytrocytter. Omtrent 1 ml leukocytfraksjon høstes fra 10 ml sentrifugert fullblod som i gjennomsnitt gir en 5-6x-berikning. 10 ml fullblod med en telling av hvite blodlegemer på 6×10^6 celler/ml resulterer for eksempel i 1 ml buffy coat. Antas en 5x anriking av hvite blodlegemer, fører dette til 3×10^7 celler/ml. I en protokoll som bruker 400 µl buffy coat vil $1,2 \times 10^7$ celler bli brukt.

For å unngå overbelastning av DNA-rensesprosedyren bør man ikke tillage buffy coatprøver på >10x berikning. Hvis buffy coat-prøver er beriket >10x, fortynnes prøvene til 10x berikning eller mindre med PBS eller bruk mindre startmateriale i DNA-rensesprosedyren.

Buffy coat-prøver kan brukes umiddelbart eller oppbevares ved –20 °C eller –70 °C for rensing av DNA senere. Frosne prøver bør tines raskt i vannbad på 37 °C ved forsiktig risting for å sikre grundig blanding og så bringes til romtemperatur (15–25 °C) før prosedyren starter. Unngå at det dannes skum i prøverørene. Da sikrer du pålitelig prøveoverføring. Forsøk å unngå koagler i prøvene og overfør om nødvendig prøven uten koagler til et nytt rør.

Endringshistorikk

Dokumentets revisjonshistorikk	
R3 12/2017	Oppdatering for QIAsymphony programvareversjon 5.0

For oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, se den respektive håndboken eller bruksanvisningen for QIAGEN® Kit. Håndbøker og bruksanvisninger for QIAGEN Kits er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan leveres fra QIAGENs tekniske tjenester eller den lokale distributøren.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (QIAGEN-gruppen). Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet skal ikke anses som ikke-beskyttet ved lov selv når de ikke er spesielt merket som sådan.
12/2017 HB-0977-S06-003 © 2017 QIAGEN. Med enerett.

Bestilling www.qiagen.com/shop | Teknisk støtte support.qiagen.com | Nettside www.qiagen.com