

Dezember 2017

QIA Symphony[®] SP Protokollblatt

DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP Protokoll

Das vorliegende Dokument ist das *QIASymphony SP Protokollblatt*, R3 zum DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP Protokoll für den QIASymphony DSP DNA Mini Kit, Version 1.

Allgemeine Informationen

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

Dieses Protokoll gilt für die Reinigung der gesamten genomischen und mitochondrialen Human-DNA aus frischen oder gefrorenem Buffy-Coat mithilfe des QIASymphony SP und des QIASymphony DSP DNA Midi Kit.

Kit	QIASymphony DSP DNA Midi Kit (Katalognr. 937255)
Probenmaterial	Buffy-Coat (EDTA, Citrat oder Heparin antikoaguliert)
Protokollbezeichnung	DNA_BC_400_V6_DSP
Standard-Assay-Kontroll-Set	ACS_BC_400_V6_DSP
Bearbeitbar	Elutionsvolumen: 200 µl, 400 µl
Erforderliche Softwareversion	Version 4.0 oder höher

Schublade „Sample“ (Proben)

Probenart	Buffy-Coat (EDTA, Citrat oder Heparin antikoaguliert)
Probenvolumen	Je nach Art des Probenröhrchens; für weiterführende Informationen siehe www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Primärprobenröhrchen	n. z.
Sekundärprobenröhrchen	Weiterführende Informationen finden Sie unter www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Einsätze	Je nach Art des Probenröhrchens; für weiterführende Informationen siehe www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

n. z. = nicht zutreffend

Schublade „Reagents and Consumables“ (Reagentien and Verbrauchsmaterialien)

Position A1 und/oder A2	Reagenzienkartusche
Position B1	n. z.
Halter für Spitzen-Racks, Positionen 1–17	Einmal-Filterspitzen, 200 µl oder 1500 µl
Halter für Verbrauchsartikel-Container, Positionen 1–4	Verbrauchsartikel-Container enthalten Probenverarbeitungseinsätze oder 8-Magnetstab-Schutzhülsen

n. z. = nicht zutreffend

Schublade „Waste“ (Abfall)

Halter für Verbrauchsartikel-Container, Positionen 1–4	Leercontainer für Verbrauchsmaterial
Halter für Abfallbeutel	Abfallbeutel
Halter für Flüssigabfallbehälter	Leerer Flüssigabfallbehälter

Schublade „Eluate“ (Elution)

Elutions-Rack (es wird empfohlen Platz 1, Kühlposition, zu verwenden)	Weiterführende Informationen finden Sie unter www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.
--	--

Erforderliche Kunststoff-Verbrauchsartikel

	Eine Charge, 24 Proben*	Zwei Chargen, 48 Proben*	Drei Chargen, 72 Proben*	Vier Chargen, 96 Proben*
Einmal-Filterspitzen, 200 µl [†]	4	4	4	8
Einmal-Filterspitzen, 1500 µl [†]	110	212	314	424
Probenverarbeitungseinsätze [§]	18	36	54	72
8-Magnetstab-Schutzhülsen [¶]	3	6	9	12

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

[†] Jedes Spitzen-Rack enthält 32 Filterspitzen.

[‡] Bei der Anzahl der erforderlichen Filterspitzen sind die für 1 Inventar-Scan pro Reagenzienkartusche benötigten Filterspitzen eingerechnet.

[§] Ein Verbrauchsartikel-Container enthält 28 Probenverarbeitungseinsätze.

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

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

Elutionsvolumen

Das Elutionsvolumen wird auf dem Touchscreen ausgewählt. Je nach Art der Probe und DNA kann das endgültige Elutionsvolumen um bis zu 15 µl unter dem ausgewählten Volumen liegen. Deshalb wird empfohlen, das tatsächliche Elutionsvolumen bei Verwendung eines automatischen Assay-Systems ohne Elutionsvolumenprüfung vor dem Transfer zu prüfen. Bei einem geringeren Elutionsvolumen erhöht sich die DNA-Konzentration, die Ausbeute sinkt jedoch. Wir empfehlen ein Elutionsvolumen, das für die nachgeschaltete Anwendung geeignet ist.

Vorbereitung des Probenmaterials

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

Wichtiger Hinweis, der vor der Durchführung zu beachten ist

- RNA kann mit QIASymphony-Magnetpartikeln gereinigt werden. Um den RNA-Gehalt der Probe zu minimieren, fügen Sie vor dem Schritt RNase A zur Probe hinzu. Die endgültige RNase A-Konzentration muss 2 mg/ml betragen.

Buffy-Coat

Buffy-Coat ist eine leukozytenreiche Fraktion des Vollbluts. Die Effizienz der Leukozytenanreicherung hängt vom Verfahren zur Vorbereitung des Buffy-Coats und der Genauigkeit ab, mit der die Buffy-Coat-Schicht extrahiert wird. Bereiten Sie den Buffy-Coat vor, indem Sie Vollblutproben mit einem Standard-Antikoagulans (EDTA, Citrat oder Heparin) mit 900-1100 x g für 10 Minuten bei Raumtemperatur (15-25 °C) zentrifugieren. Nach der Zentrifugierung sind 3 verschiedene Fraktionen erkennbar: die obere klare Schicht ist Plasma, die Zwischenschicht ist der Buffy-Coat mit konzentrierten Leukozyten und die untere Schicht enthält konzentrierte Erythrozyten. Aus 10 ml zentrifugiertem Vollblut sollte sich ca. 1 ml leukozytenhaltige Fraktion gewinnen lassen, das ergibt eine ca. 5-6x Anreicherung. 10 ml Vollblut z. B. mit einem Blutzellenanteil von 6×10^6 Zellen/ml ergeben 1 ml Buffy-Coat. Bei einer 5x Anreicherung mit weißen Blutzellen sind das 3×10^7 Zellen/ml. Deshalb werden in einem Protokoll mit 400 µl Buffy-Coat $1,2 \times 10^7$ Zellen verwendet.

Um eine Überlastung des DNA-Reinigungsprozesses zu vermeiden, bereiten Sie keine Buffy-Coat-Proben mit einer >10x Anreicherung vor. Verdünnen Sie Buffy-Coat-Proben mit einer >10x Anreicherung mit PBS oder auf 10x oder weniger oder verwenden Sie zur DNA-Reinigung weniger Ausgangsmaterial.

Buffy-Coat-Proben können sofort eingesetzt oder bei -20 bis -70 °C zur späteren DNA-Reinigung gelagert werden. Gefrorene Proben sollten in einem 37 °C warmen Wasserbad unter leichtem Rühren aufgetaut und vor Beginn des Verfahrens auf Raumtemperatur (15-25 °C) gebracht werden. Um einen zuverlässigen Probentransfer sicherzustellen, vermeiden Sie Schaum in den Probenröhrchen. Vermeiden Sie möglichst Blutklumpen in den Proben und füllen Sie die Probe notfalls klumpenfrei in ein sauberes Röhrchen um.

Bearbeitungshistorie

Bearbeitungshistorie des Dokuments	
R3 12/2017	Aktualisierung für die QIASymphony Software, Version 5.0

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische rechtliche Hinweise finden Sie im Handbuch bzw. der Gebrauchsanweisung des jeweiligen QIAGEN®-Kits. Diese stehen unter www.qiagen.com zur Verfügung oder können vom technischen Service von QIAGEN oder dem für Sie zuständigen Vertriebspartner angefordert werden.

Warenzeichen: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Gruppe). Bei registrierten Namen, Warenzeichen usw., die in diesem Dokument genannt werden, ist nicht davon auszugehen, dass sie gesetzlich nicht geschützt sind, auch wenn sie nicht ausdrücklich als registrierter Name bzw. registrierte Marke gekennzeichnet sind.
12/2017 HB-0977-S06-003 © 2017 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

Bestellungen www.qiagen.com/shop | Technischer Support support.qiagen.com | Website www.qiagen.com