

August 2015

Bruksanvisning (håndbok) for QIASymphony[®] DSP DNA



192 (katalognr. 937236)



96 (katalognr. 937255)

Versjon 1



Til in vitro-diagnostisk bruk

QIASymphony DSP DNA Mini Kit

QIASymphony DSP DNA Midi Kit



937236, 937255



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden TYSKLAND

R4  1069185NO



Innhold

Tilsiktet bruk	3
Sammendrag og forklaring	3
Prosedyrens prinsipper	4
Medfølgende materialer	6
Settets innhold	6
Nødvendige materialer som ikke medfølger	6
Advarsler og forholdsregler	7
Lagring og håndtering av reagensen	11
Komponenter i settet	12
Prøvetaking og -klargjøring	13
Automatisert rensing på QIAasymphony SP	13
Protokoll: Rensing av DNA	20
Kvalitetskontroll	24
Begrensninger	24
Symboler	25
Feilsøkningsveiledning	27
Vedlegg: Kvantifisering, måling av renheten til DNA	30
Kvantifisering av DNA	30
Renhet av DNA	31
Bestillingsopplysninger	32

Tilsiktet bruk

QIASymphony DSP DNA Mini Kit og QIASymphony DSP DNA Midi Kit benytter magnetisk partikkelteknologi for automatisert isolasjon og rensing av DNA fra biologiske prøver.

Produktene er beregnet til bruk av profesjonelle brukere, slik som teknikere og fysikere som er opplært i molekylær-biologiske teknikker.

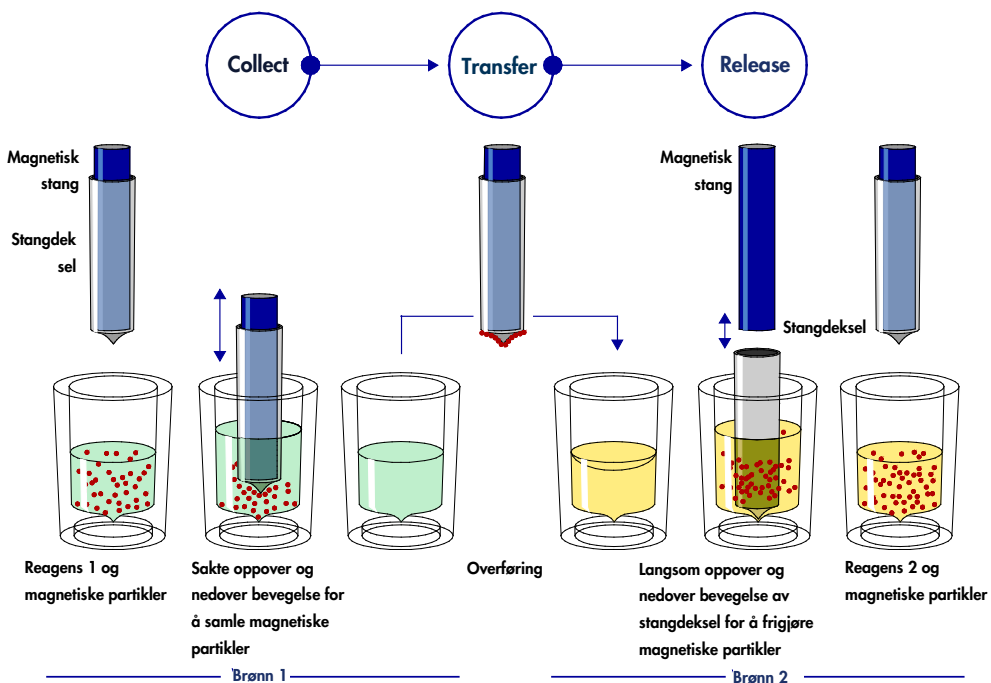
QIASymphony DSP DNA-systemet er beregnet til in vitro-diagnostisk bruk.

Sammendrag og forklaring

QIASymphony DSP DNA Kits er beregnet til bruk kun i kombinasjon med QIASymphony SP. QIASymphony DSP DNA-sett inneholder reagenser til fullstendig automatisert og simultan rensing av totalt DNA fra humant fullblod, buffycoat, vev og FFPE-vev, samt viralt DNA fra humant fullblod. Ytelsesegenskapene for hvert virus, vev eller FFPE-vev er imidlertid ikke fastsatt og må valideres av brukeren. Men ytelsesegenskapene til hver virusart, vev FFPE-vev, cellekultur eller bakterieart har ikke blitt fastsatt og må valideres av brukeren. Magnetisk partikkelteknologi gjør det mulig med rensing av høykvalitets nukleinsyrer som er fri for proteiner, nukleaser og andre urenheter. De rensede nukleinsyrene er klare for direkte bruk i downstream-applikasjoner, slik som f.eks. forsterkning eller andre enzymatiske reaksjoner. QIASymphony SP yter alle trinn av rensesedyren. Opptil 96 prøver, i omganger på 24, behandles i en enkelt kjøring. For vev, FFPE-vev, dyrkede celler og bakterieprotokoller er det nødvendig med manuell prøveforbehandling.

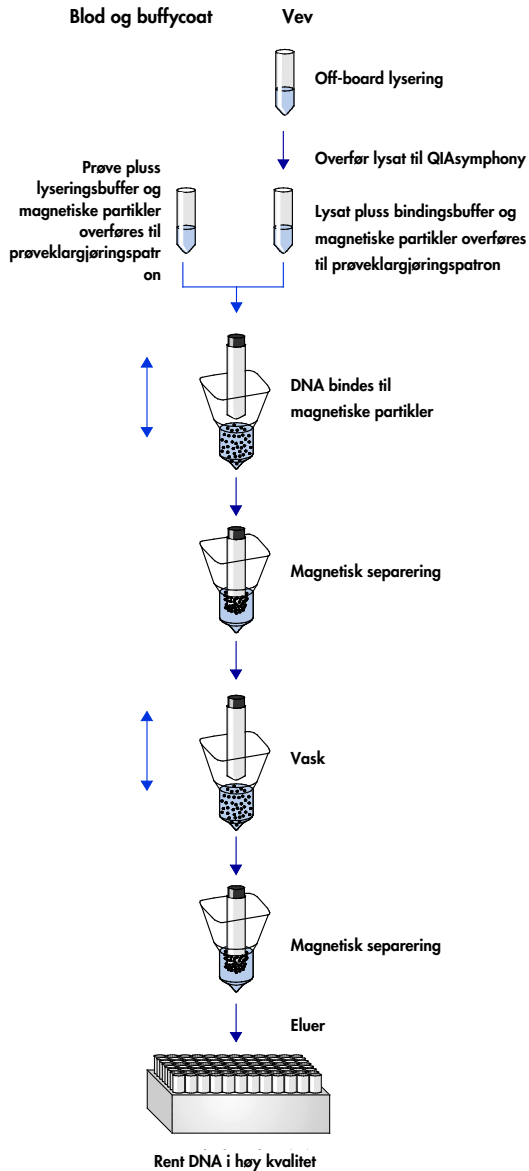
Prosedyrens prinsipper

QIASymphony-teknologi kombinerer hastigheten og effektiviteten på silikabasert nukleinsyrerensning med den praktiske håndteringen av magnetiske partikler (figur 1, nedenfor). Renseprosedyren er utformet til å sikre sikker og reproducerbar håndtering av potensielt smittsomme prøver og består av 4 trinn: lysere, binde, vaske og fortynne (se flytskjema side 6). Brukeren kan velge mellom ulike elusjonsvolum.



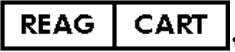

Figur 1. Skjematisert visning av QIASymphony SP-prinsippet. QIASymphony SP behandler en prøve som inneholder magnetiske partikler på følgende måte: En magnetisk stang som er beskyttet av et stangdeksel, kommer inn i en brønn som inneholder prøven og trekker til seg de magnetiske partiklene. Det magnetiske stangdekselet er posisjonert over en annen brønn og de magnetiske partiklene frigis. QIASymphony SP bruker et magnetisk hode som inneholder en gruppe med 24 magnetiske stenger og kan derfor behandle inntil 24 prøver samtidig. Trinn 1 og 2 gjentas flere ganger i løpet av prøvebehandlingen.

Prosedyre for QIAasympny DSP



Medfølgende materialer

Settets innhold

QIA Symphony DSP DNA Kit			Mini	Midi
Katalognr.			937236	937255
Antall klargjøringer			192	96*
RC	Reagent Cartridge (Reagenspatron) [†]		2	2
ER	Enzyme Rack (Enzymstativ)		2	2
PL	Piercing Lid (Stikklokk)		2	2
ATE	Buffer ATE (20 ml) [‡]		20 ml	20 ml
RSS	Reuse Seal Set (Gjenbrukstetningssett) [§]		2	2
	Handbook (Håndbok)		1	1

* For 96 x 1000 µl klargjøringer eller 144 x 400 µl klargjøringer.

Inneholder guanidinsalter. Ikke kompatibel med desinfiseringsmidler som inneholder blekemiddel. Se side 9 for sikkerhetsinformasjon.

[†] Inneholder natriumazid som preserveringsmiddel.

[§] Et gjenbrukstetningssett inneholder 8 gjenbrukbare tetningsstrimler.

[‡] Se side **Fehler! Textmarke nicht definiert.** for symbolliste med definisjoner.

Nødvendige materialer som ikke medfølger

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Du finner mer informasjon i de aktuelle sikkerhetsdatabladene (HMS-databladene), som fås fra leverandøren av produktet.

- QIASymphony SP
- Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (Prøveklargjøringspatroner, 8-brønns patroner) (kat.nr. 997002)
- 8-Rod Covers (8-stangsdeksler) (kat.nr. 997004)
- Filter-Tips (Filterspisser), 200 µl og 1500 µl (kat.nr. 990332 og 997024)
- Prøverør (f.eks. 2 ml prøverør med skruheter, Sarstedt kat.nr. 72.693, eller uten hetter, Sarstedt kat.nr. 72.608 eller Sarstedt kat.nr. 72.694). Kompatible primære og sekundære rørformater er oppført på www.qiagen.com/goto/dspdnakits.
- Elusjonsrør eller -plater. Kompatible elusjonsrør- og plateformater er opplistet på www.qiagen.com/goto/dspdnakits.
- Fosfatbufret saltvannsløsning (PBS, man være nødvendig for å fortynne prøver)
- Vorteksmikser
- Alternativt: DNase-fri RNase A (for å minimere RNA-innhold)
- For flere materialer som er nødvendige for vev- og virusblodapplikasjoner se protokollblader på www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Advarsler og forholdsregler

Til in vitro-diagnostisk bruk.

Les alle instruksjonene nøye for du bruker settet.

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Du finner mer informasjon på de aktuelle sikkerhetsdatabladene (HMS-databladene). Disse er tilgjengelige på nettet i praktisk og kompakt PDF-format på www.qiagen.com/safety. Her kan du finne, vise og skrive ut SDS for hvert QIAGEN®-sett og settkomponent.



FORSIKTIG: IKKE tilfør blekemidler eller sure løsninger direkte til prøvepreparatavfall.

Bufre i reagenspatronen (RC) inneholder guanidinsalter som kan danne sterkt reaktive forbindelser når de kombineres med blekemiddel. Hvis væske som inneholder disse bufrene søles, må det rengjøres med egnet laboratorierengjøringsmiddel og vann. Hvis væsken som søles inneholder potensielt smittefarlige stoffer, renses det berørte området først med laboratorierengjøringsmiddel og vann, deretter med 1 % (v/v) natriumhypokloritt.

Følgende risiko- og sikkerhetssetninger gjelder for komponenter i QIASymphony DSP DNA Kits

QSB1



Inneholder: Brij 58; guanidine thiocyanate; Isopropanol. Fare! Kan være skadelig ved svelging eller i kontakt med hud. Gir alvorlige etseskader på hud og øyne. Kan forårsake dødsighet eller svimmelhet. Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann. Meget brannfarlig væske og damp. Ved kontakt med syrer utvikles meget giftig gass. Innhold/ beholder leveres til godkjent avfallsanlegg. VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll/dusj huden med vann. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER eller lege. Holdes vekk fra varme/gnister/åpen flamme/varme overflater. - Røyking forbudt. Oppbevares på et godt ventilert sted. Hold beholderen tett lukket. Benytt vernehansker/ verneklær/ vernebriller/ ansiktsskjerm.

MBS

Advarsel! Forårsaker mild hudirritasjon. Ved hudirritasjon: Søk legehjelp.

Proteinase K



Inneholder: Proteinase K. Fare! Forårsaker mild hudirritasjon. Kan gi allergi eller astmasymptomer eller pustevansker ved innånding. Unngå innånding av støv/ røyk/ gass /tåke/ damp/ aerosoler. Innhold/ beholder leveres til godkjent avfallsanlegg. Ved symptomer i luftveiene: Kontakt et GIFTINFORMASJONSSENTER eller lege. VED INNÅNDING: Ved pustevansker, flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende hviler i en stilling som letter åndedrettet. Bruk åndedrettsvern.

QSL1



Inneholder: guanidine hydrochloride; maleic acid. Advarsel! Kan være skadelig ved svelging eller inhalering. Irriterer huden. Gir alvorlig øyeirritasjon. Kan utløse en allergisk hudreaksjon. Ved vedvarende øyeirritasjon: Søk legehjelp. Tilsølte klær må fjernes og vaskes før de brukes på nytt. Benytt vernehansker/ verneklær/ vernebriller/ ansiktsskjerm.

QSW1



Inneholder: ethanol; guanidine hydrochloride; lithium chloride. Advarsel! Kan være skadelig ved svelging. Irriterer huden. Gir alvorlig øyeirritasjon. Brannfarlig væske og damp. Innhold/ beholder leveres til godkjent avfallsanlegg. Ved vedvarende øyeirritasjon: Søk legehjelp. Tilsølte klær må fjernes og vaskes før de brukes på nytt. Holdes vekk fra varme/gnister/åpen flamme/varme overflater. - Røyking forbudt. Oppbevares på et godt ventilert sted. Oppbevares kjølig. Benytt vernehansker/ verneklær/ vernebriller/ ansiktsskjerm.

QSW2



Inneholder: ethanol. Fare! Gir alvorlig øyeirritasjon. Meget brannfarlig væske og damp. Innhold/ beholder leveres til godkjent avfallsanlegg. Ved vedvarende øyeirritasjon: Søk legehjelp. Holdes vekk fra varme/gnister/åpen flamme/varme overflater. - Røyking forbudt. Oppbevares på et godt ventilert sted. Oppbevares kjølig. Benytt vernehansker/ verneklær/ vernebriller/ ansiktsskjerm.

Lagring og håndtering av reagensen

QIASymphony DSP DNA Kits skal oppbevares stående i romtemperatur (15–25 °C). De magnetiske partiklene i reagenspatronene (RC) forblir aktive når de lagres ved denne temperaturen. Når settet oppbevares riktig, er det stabilt frem til utløpsdatoen på esken.

Merk: Merket på QIASymphony DSP DNA Kit-esken viser settets utløpsdato. Resultatfilen dokumenterer utløpsdatoene kun for reagenspatronen (RC).

Komponenter i settet

QIA Symphony DSP DNA Kits inneholder bruksklar proteinase K-løsning som kan oppbevares ved romtemperatur.

Reagenspatroner (RC) må ikke lagres i temperaturer under 15 °C.

Delvis brukte reagenspatroner (RC) kan oppbevares i maks. 4 uker, noe som gjør det mulig med kostnadseffektiv gjenbruk av reagenser og mer fleksibel prøvebehandling. Hvis en reagenspatron (RC) er delvis brukt, sett på plass dekselet på karet som inneholder de magnetiske partiklene, og forsegle reagenspatronen (RC) med de medfølgende gjenbrukbare tetningsstrimlene umiddelbart etter slutten av protokollkjøringen for å unngå fordampning.

For å unngå reagensfordampning skal reagenspatronen (RC) være åpen maksimalt 15 timer (inkludert kjøretider) ved en maksimal miljøtemperatur på 30 °C.

Kjøring av batcher med lave prøveantall (< 24) vil øke både tiden som reagenspatronen (RC) er åpen og de nødvendige buffervolumene, noe som potensielt reduserer det totale antallet prøveklargjøringer som er mulig per patron.

Unngå eksponering av reagenspatronene (RC) ovenfor UV-lys (f.eks. brukt til dekontaminering), da eksponering kan forårsake akselerert aldring av reagenspatroner (RC) og bufre.

Merk: Merket på QIA Symphony DSP DNA Kitesken viser settets utløpsdato. Resultatfilen dokumenterer utløpsdatoene kun for reagenspatronen (RC).

Prøvetaking og -klargjøring

Forhindre dannelse av skum i eller på prøvene. Avhengig av startmaterialet kan det være nødvendig med forhåndsbehandling.

Prøver skal ekvibreres til romtemperatur (15–25 °C) før kjøringen startes.

For mer informasjon om den automatiserte prosedyren (inkludert informasjon om prøverør som kan brukes med spesifikke protokoller) og spesifikke prøveforhåndsbehandlinger, se relevant protokollblad som er tilgjengelig på www.qiagen.com/goto/dspdnakits. Prosedyre

Automatisert rensing på QIASymphony SP

QIASymphony SP gjør automatisert prøveklargjøring lett og praktisk. Prøver, reagenser og forbruksvarer og eluater er separert i ulike skuffer. Last ganske enkelt prøvene, reagensene som finnes i spesielle patroner og forhåndsstablede forbruksvarer i den riktige skuffen før en kjøring. Start protokollen og fjern rensed DNA fra "Eluat"-skuffen etter behandling. Se brukerhåndbøkene som medfølger instrumentet for driftsinstruksjoner.

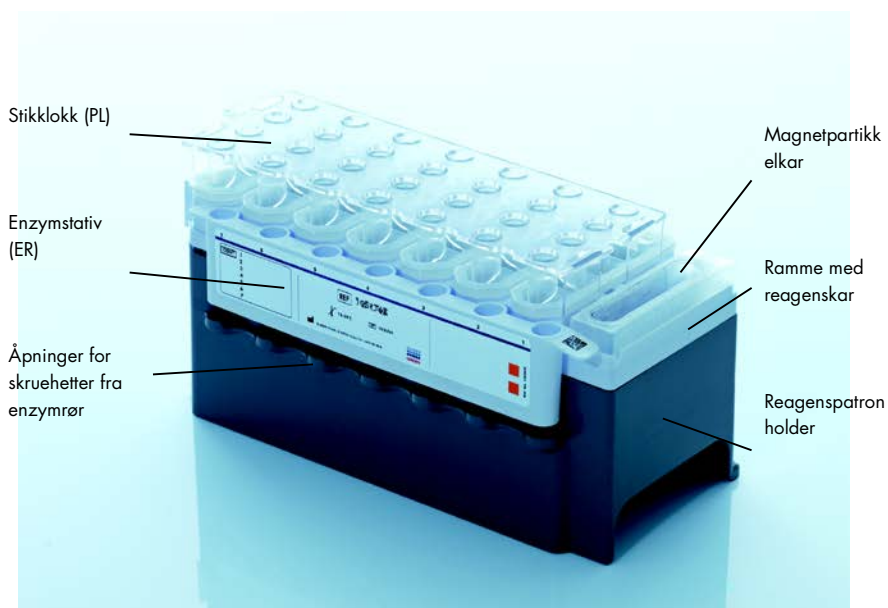
Merk: Ekstra vedlikehold er ikke obligatoriske for instrumentets funksjon, men er sterkt anbefalt for å redusere faren for kontaminering.

Protokollutvalget som er tilgjengelig utvides kontinuerlig, og flere QIAGEN-protokoller kan lastes ned kostnadsfritt fra www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Laste reagenspatroner (RC) inn i skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbruksvarer)

Reagenser for rensing av DNA finnes i en innovativ reagenspatron (RC) (figur 2). Hvert kar i reagenspatronen (RC) inneholder en spesiell reagens, slik som magnetiske partikler, lysebuffer, vaskebuffer eller elusjonsbuffer. Delvis brukte reagenspatroner (RC) kan lukkes

igjen med gjenbrukbare tetningsstrimler for senere bruk, noe som forhindrer oppsamling av avfall på grunn av resterende reagenser på slutten av renseprosedyren.



Figur 2. QIASymphony reagenspatron (RC). Reagenspatronen (RC) inneholder alle reagenser som kreves for protokollkjøringen.

Før prosedyren startes, se til at de magnetiske partiklene er helt resuspendert. Ta det magnetiske partikkelkaret ut av reagenspatronrammen, bland med vorteksmikser i minst 3 minutter og sett det på plass i reagenspatronrammen før første bruk. Plasser reagenspatronen (RC) i reagenspatronholderen. Plasser enzymstativet (ER) i

reagenspatronholderen. Før bruk av en reagenspatron (RC) for første gang, plasser stikklokket (PL) oppå reagenspatronen (RC) (figur 2, ovenfor).

Merk: Stikklokket (PL) er skarpt. Vær forsiktig ved plassering på reagenspatronen (RC). Se til å plassere stikklokket (PL) på reagenspatronen (RC) i riktig retning.

Etter at den magnetiske partikkelens kardeksel er fjernet og enzymstativrørene er åpnet (skruehettene kan lagres i tilegnede åpninger, se figur 2 ovenfor), lastes reagenspatronen (RC) deretter inn i skuffen "Reagents and Consumables".

Delvis brukte reagenspatroner (RC) kan lagres inntil det er behov for dem igjen, se "Lagring og håndtering av reagensen" side 11.

Laste plastdeler inn i "Reagents and Consumables"-skuffen

Prøveklargjøringspatroner, 8-stangdeksler (begge forhåndsoppsatt i enhetsbokser) og engangs filterspisser (200 µl spisser levert i blå stativer, 1500 µl spisser levert i grå stativer) lastes inn i "Reagents and Consumables"-skuffen.

Merk: Se til at dekslene på enhetsboksene fjernes før lasting av enheten inn i "Reagents and Consumables"-skuffen.

Merk: Spissene har filtre for å bidra til å forhindre krysskontaminering.

Spisstativåpninger på QIASymphony SP-arbeidsbenken kan fylles med begge typer spisstativer. QIASymphony SP vil identifisere typen spisser som lastes under inventarskanningen.

Merk: Ikke fyll på spisstativer eller enhetsesker for prøveklargjøringspatroner eller 8-stangdeksler før en ny protokollkjøring startes. QIASymphony SP kan bruke delvis brukte spisstativer og enhetsesker.

For de forbruksvarer som er nødvendige se det relevante protokollbladet som er tilgjengelig på www.qiagen.com/goto/dspdnakits For bestillingsinformasjon for plastdeler se side 32.

Laste skuffen "Waste" (Avfall)

Prøveklargjøringspatroner og 8-stangdeksler som brukes under en kjøring er forhåndsplassert i tomme enhetsesker i "Waste"-skuffen. Se til at "Waste"-skuffen inneholder tilstrekkelig med tomme enhetsesker for plastavfall som genereres under protokollkjøringen.

Merk: Se til at dekslene på enhetsboksene fjernes før lastning av enheten inn i "Waste"-skuffen. Hvis du bruker 8-stangdekslesker til å samle brukte prøveklargjøringspatroner og 8-stangdeksler, sikre at eskeavstandsstykket har blitt fjernet.

En pose for brukte filterspisser må festes til frontsiden av "Waste"-skuffen.

Merk: Tilstedeværelsen av en spisskasseringspose kontrolleres ikke av systemet. Kontroller at spisskasseringsposen sitter ordentlig festet før en protokollkjøring startes. For mer informasjon se brukerhåndbøkene som medfølger instrumentet. Tøm spissposen etter at maksimalt 96 prøver har blitt behandlet for å unngå spissfastkjøring.

En avfallsbeholder samler væskeavfall som genereres under renseprosedyren. "Waste"-skuffen kan kun lukkes hvis avfallsbeholderen er på plass. Bortskaff væskeavfallet ifølge de lokale sikkerhets- og miljøforskriftene. Ikke autoklaver den fylte avfallsflasken. Tøm avfallsflasken etter at maksimalt 96 prøver har blitt behandlet.

Laste "Eluate"-skuffen

Laste det nødvendige elusjonsstativet inn i "Eluat"-skuffen. Etter som langsiktig lagring av eluater i "Eluat"-skuffen kan føre til fordampning av eluater, anbefaler vi sterkt å bruke kjøleposisjonen: Bruk kun "Elution slot 1" (Elusjonsåpning 1) med tilhørende kjøleadapter.

Inventarskanning

Før du starter en kjøring kontrollerer instrumentet at det er lastet en tilstrekkelig mengde forbruksvarer for de ventende omgangene i de tilhørende skuffene.

Klargjøring av prøvematerialer

QIASymphony DSP DNA-sett er utviklet for automatisert rensing av totalt DNA fra humant fullblod, buffycoat, vev og formalinfiksert, parafininnstøpt vev (FFPE), samt viralt DNA fra humant fullblod (tabell 1, side 19).

Forhindre dannelse av skum i eller på prøvene. Avhengig av startmaterialet kan det være nødvendig med forhåndsbehandling. Prøver skal ekvilibres til romtemperatur (15–25 °C) før kjøringen startes. Protokoller for vev og FFPE-vev krever at prøven forbehandles manuelt.

For mer informasjon om den automatiserte prosedyren (inkludert informasjon om prøverer som kan brukes med spesifikke protokoller) og spesifikke prøveforhåndsbehandlinger, se relevant protokollblad som er tilgjengelig på www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Ytelse av rensed DNA

DNA-ytelse avhenger av prøvetype, antall nukleerte celler i prøven, kvaliteten på startmaterialet og protokollen som brukes til isolasjonen av DNA. Elusjon i mindre volum øker den endelige DNA-konsentrasjonen i eluatet, men reduserer den helhetlige DNA-ytelsen. Vi anbefaler å bruke et elusjonsvolum som passer for den beregnede downstream-applikasjonen. QIASymphony DSP DNA Kits renser både RNA og DNA hvis begge er til stede i prøven. For å minimere RNA-innholdet i prøven kan RNase A tilsettes prøven i trinnet angitt i den respektive forbehandlingsprotokollen. For mer informasjon se protokollbladene på www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Oppbevaring av DNA

Renset DNA kan oppbevares ved 2–8 °C i opptil 5 dager. For langsiktig oppbevaring oppbevare ved –20 °C eller –80 °C.

Tabell 1. Protokolloversikt

Prøve	Prøvevolum (µl)	Elusjonsvolum (µl)	Sett	QIAasymphony SP-protokoll
Fullblod	200	50, 100, 200	Mini	Blood 200 DSP
	400	100, 200, 400	Midi	Blood 400 DSP
	1000	200, 400, 500	Midi	Blood 1000 DSP
Buffycoat	200	200, 300, 400	Mini	DNA Buffy Coat 200 DSP
	400	200, 400	Midi	DNA Buffy Coat 400 DSP
Virusblod	200	60, 85, 110, 165	Mini	VirusBlood200 DSP
Vev	200	50, 100, 200,400	Mini	Tissue LC 200 DSP
	200	100, 200, 400	Mini	Tissue HC 200 DSP

Viktige poeng før du starter

- Sørg for at du er kjent med bruken av QIAasymphony SP. Se brukerhåndbøkene som medfølger instrumentet for driftsinstruksjoner.
- Ekstra vedlikehold er ikke obligatoriske for instrumentets funksjon, men er sterkt anbefalt for å redusere faren for kontaminering.
- Før prosedyren begynnes, les "Prosedyrens prinsipper" som begynner på side 4.
- Sørg for at du er kjent med protokollarket ifølge prosedyren du ønsker å bruke (www.qiagen.com/goto/dspdnakits).
- Før bruk av en reagenspatron for første gang, kontroller at bufrene QSL1 og QSB1 ikke inneholder noe presipitat. Ved behov, flytt karene som inneholder bufrene QSL1 og QSB1 fra reagenspatronen og inkuber i 30 minutter ved 37 °C med ekstra resting for å løse opp presipitatet. Se til å sette på plass karene i de riktige posisjonene. Hvis reagenspatronen allerede er hullet, se til at karene er forseglet med gjenbrukstetningsstrimler og inkuber hele reagenspatronen i 30 minutter ved 37 °C og rist av og til i et vannbad.*

* Påse at instrumentene er kontrollert, vedlikeholdt og kalibrert regelmessig i henhold til produsentens instruksjoner.

- Prøv å unngå kraftig risting av reagenspatronen (RC), ellers kan det dannes skum, som kan føre til problemer med væskenivådeteksjon

Ting du skal gjøre før du starter

- Før prosedyren startes, se til at de magnetiske partiklene er helt resuspendert. Roter karet som inneholder de magnetiske partiklene kraftig i minst 3 minutter før første bruk.
- Se til at stikklokket plasseres på reagenspatronen og at lokket på magnetpartikkelkaret har blitt fjernet, eller ved bruk av en delvis brukt reagenspatron, se til at gjenbrukstetningsstrimlene har blitt fjernet.
- Se til å åpne enzymrørene.
- Hvis prøvene er strekkodet, orienter prøvene i rørbæreren slik at strekkodene vender mot strekkodeleseren på venstre side av QIASymphony SP.
- For informasjon om prøverør som er kompatible med en bestemt protokoll, se det tilhørende laborativareliste (tilgjengelig på www.qiagen.com/goto/dspdnakits).
- For informasjon om minste prøvemengder for prøver i primære og sekundære rør for en bestemt protokoll, se tilhørende laborativareliste (tilgjengelig på www.qiagen.com/goto/dspdnakits). Denne informasjonen indikerer også hvilke rør som kan brukes til de ulike protokollene.

Protokoll: Rensing av DNA

Følgende er en generell protokoll for bruk av QIASymphony DSP DNA Kits. Detaljert informasjon for hver protokoll, inkludert mengder og rør, finnes i de gitte protokollbladene som kan lastes ned på www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

1. Lukk alle skuffer og lokket.
2. Slå QIASymphony SP PÅ, og vent til skjermbildet **Sample Preparation** (Prøveklargjøring) vises og initialiseringsprosedyren er ferdig.

Strømbryteren befinner seg nederst i venstre hjørne på QIASymphony SP.

3. Logg inn på instrumentet.

4. Se til at "Avfall"-skuffen er klargjort riktig, og utfør en inventarskanning av "Avfall"-skuffen, inkludert spissrennen og væskeavfall. Skift spisskasseringsposen ved behov.

5. Laste det nødvendige elusjonsstativet inn i "Eluate"-skuffen.

Ikke last en 96-brønns plate på "Elution slot 4" (Elusjonsåpning 4).

"Elution slot 1", med tilhørende kjøleadapter, må brukes.

Ved bruk av en 96-brønns plate, se til at platen er i riktig orientering, da feil plassering kan forårsake prøvesammenblanding i downstream-analysen.

Ved bruk av elusjonsmikrorør CL-stativet må bunnen fjernes ved å vri stativet til bunnen faller av.

Laste nødvendig(e) reagenspatron(er) og forbruksvarer inn i "Reagents and Consumables"-skuffen.

6. Utfør en inventarskanning av "Reagents and Consumables"-skuffen.

7. Plasser prøvene inn i den passende prøvebæreren og last dem inn i "Prøve"-skuffen.

8. For virusblodapplikasjoner: Rør som inneholder intern kontrollbuffer ATE-blanding skal plasseres i åpning A av skuffen "Sample" (Prøve).

VIKTIG: For VirusBlood200-applikasjoner må røret/rørene som inneholder intern kontroll-buffer ATE-blanding, plasseres i spor A i "Sample"-skuffen.

For mer informasjon om å klargjøre blandingen og bruke en intern kontroll se relevant protokollblad (tilgjengelig på www.qiagen.com/goto/dspdnakits).

9. Bruk berøringsskjermen og tast inn den nødvendige informasjonen vfor hver prøveomgang som skal behandles.

Legg inn følgende informasjon:

Prøveinformasjon (avhengig av prøvestativer som skal brukes).

Protokoll som skal kjøres (analysekontrollsett).

Elusjonsmengde og utgangsposisjon.

For VirusBlood200-applikasjoner: røret/rørene som inneholder intern(e) kontroll(er)
Etter at informasjonen om batchen har blitt tastet inn, endres statusen fra "LOADED"
(LASTET) til "QUEUED" (VENTENDE). Straks etter at en omgang er satt på venting, vises
knappen "Run" (Kjør).

10. Trykk på knappen "Run" for å starte renseprosedyren..

Alle behandlingstrinn er helautomatiserte. På slutten av protokollkjøringen endres statusen
til omgangen fra "RUNNING" (KJØRER) til "COMPLETED" (FULLFØRT).

11. Ta ut elusjonsstativet som inneholder de rensede nukleinsyrene fra "Eluat"-skuffen.

12. DNA er klar til bruk eller kan oppbevares ved 2–8 °C, –20 °C eller –80 °C.

Vi anbefaler å fjerne eluatplaten fra "Eluat"-skuffen umiddelbart etter at kjøringen er
ferdig. Avhengig av temperatur og fuktighet kan elusjonsplater som etterlates i
QIASymphony SP etter at kjøringen er fullført, utsettes for kondensering eller
fordampning.

Generelt sett overføres ikke de magnetiske partiklene over til eluater. Hvis det
forekommer overføring, vil ikke magnetiske partikler i eluater påvirke de fleste
downstream-applikasjoner.

Hvis magnetiske partikler må fjernes før utføring av downstream-applikasjoner, skal rør
eller plater som inneholder eluater først plasseres i en egnet magnet og eluatene
overføres til et rent rør (se vedlegg side 30).

Resultatfiler genereres for hver elusjonsplate.

13. Hvis en reagenspatron kun er delvis brukt, forsegle den med de medfølgende
gjenbrukstetningsstrimlene og lukk rørene som inneholder proteinase K med skrueretter
umiddelbart etter slutten av protokollkjøringen for å unngå fordampning.

Merk: For mer informasjon om oppbevaring av delvis brukte reagenspatroner (RC), se
"Lagring og håndtering av reagensen" på side 11.

14. Kast brukte prøverør og avfall i henhold til lokale sikkerhetsforskrifter.

Se side **Fehler! Textmarke nicht definiert.** for sikkerhetsinformasjon.

15. Rengjør QIASymphony SP.

Følg vedlikeholdsinstruksjonene i brukerhåndbøkene som medfølger instrumentet. Se til å rengjøre spissvernene regelmessig for å minimere faren for krysskontaminering.

16. Lukk instrumentskuffene og slå av QIAsymphony SP.

Kvalitetskontroll

I henhold til QIAGENs ISO-sertifiserte kvalitetsstyringssystem, testes hvert parti med QIASymphony DSP DNA Mini og Midi Kit mot forhåndsbestemte spesifikasjoner for å sikre konsekvent produktkvalitet.

Begrensninger

Systemets ytelse er fastsatt gjennom evalueringsundersøkelser hvor man har studert rensing av totalt DNA fra humant fullblod, buffycoat, vev og FFPE-vev, samt viralt DNA fra humant fullblod.









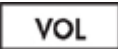



Det er brukerens ansvar å validere systemets ytelse til andre prosedyrer som brukes i laboratoriet, som ikke dekkes av QIAGENs ytelseevalueringstudier.




For å minimere risikoen for negativ påvirkning på de diagnostiske resultatene skal det brukes passende kontroller for downstream-applikasjoner. For ytterligere validering anbefales retningslinjene til ICH (internasjonal konferanse for harmonisering av tekniske krav) i *ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology* (Validering av analytiske prosedyrer: Tekst og metodologi).

Alle diagnostiske resultater som genereres, må tolkes i sammenheng med andre kliniske eller laboratoriske funn.

Symboler

Symbolene i følgende tabell er benyttet i denne bruksanvisningen.

Symbol	Symboldefinisjon
 <N>	Inneholder reagenser som er tilstrekkelig til <N> prøveklargjøringer
	Brukes innen
	In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr
	Katalognummer
	Lotnummer
	Materialenummer
	Komponenter
	Nummer
Rn	R er revisjonen av bruksanvisningen (håndboken), n er revisjonsnummeret.
	Volum
	Temperaturbegrensning
	Produsent
	Kun til bruk med

Symbol	Symboldefinisjon
EC REP	Se bruksanvisning
	Inneholder
CONT	Brønnummer
WELL	Isopropanol
REAG CART	Proteinase K
ELU BUF	Guanidintiocyanat
IPA	Guanidinhydroklorid
PROTK	Etanal
GITC	Maleinsyre
GuHCL	BRIJ 58
EtOH	Lithiumklorid
MALEIC ACID	Globalt artikkelnummer
BRIJ 58	Forsiktig!
LiCl	Skarp kant
GTIN	Volum
	Temperaturbegrensning
	Produsent

Feilsøkningsveiledning

Denne feilsøkningsveiledningen kan være nyttig for å løse problemer som kan oppstå. For mer informasjon se også siden med ofte stilte spørsmål for vårt tekniske supportcenter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Forskerne ved QIAGENs tekniske tjenester er alltid klare til å besvare alle spørsmål du måtte ha enten om informasjonen eller protokollene i denne håndboken eller prøve- og analyseteknologi (for kontaktinformasjon, se bak på omslaget eller besøk www.qiagen.com).

Kommentarer og forslag

Generell håndtering

Feilmelding vises på berørings skjermen

Hvis det vises en feilmelding under en protokollkjøring, se brukerhåndbøkene som medfølger instrumentet.

Presipitat i reagenskaret på åpen patron

- | | | |
|----|-------------------------------------|---|
| a) | Bufferfordampning | For stor fordampning kan føre til økt saltkonsentrasjon i bufrene. Kast reagenspatronen (RC). Se til å forsegle bufferkarene til delvis brukte reagenspatroner (RC) med gjenbrukstetningsstrimlene når de ikke brukes til rensing. |
| b) | Oppbevaring av reagenspatronen (RC) | Oppbevaring av reagenspatron (RC) under 15 °C kan føre til danning av presipitater. Ved behov, flytt karene som inneholder buffer QSL1 og QSB1 fra reagenspatronen (RC) og inkuber i vannbad* ved 37 °C i 30 minutter og rist av og til for å løse opp presipitat. Se til å sette på plass karet i riktig posisjon. Hvis reagenspatronen (RC) allerede er hullet, se til at karet er forseglet med gjenbrukstetningsstrimler og inkuber hele reagenspatronen (RC) i vannbad* ved 37 °C i 30 minutter og rist av og til. |

Lavt DNA-resultat

- | | | |
|----|--|---|
| a) | De magnetiske partiklene ble ikke helt resuspendert | Før prosedyren startes, se til at de magnetiske partiklene er helt resuspendert. Bland med vorteksmikser i minst 3 minutter før bruk. |
| b) | Frosne blod- eller buffycoat-prøver ble ikke blandet tilstrekkelig etter opptining | Tin opp frosne blod- eller buffycoat-prøver med mild omrøring for å sikre grundig blanding. |

* Pass på at instrumentene er sjekket, vedlikeholdt og kalibrert regelmessig i henhold til produsentens instruksjoner.

Kommentarer og forslag

- | | | |
|----|--|--|
| c) | Ufullstendig prøvelysering | Kontroller at Buffer QSL1 og QSB1 ikke inneholder presipitater før bruk. Ved behov, flytt karene som inneholder bufrene QSL1 og QSB1 fra reagenspatronen (RC), og inkuber i vannbad* i 30 minutter ved 37 °C med risting av og til for å løse opp utfellingen. , se til at karene er forseglet med gjenbrukstetningsstrimler og inkuber hele reagenspatronen (RC) i 30 minutter ved 37 °C og rist av og til i et vannbad.* |
| d) | Ufullstendig forbrenning av vevsprøver | Se til at vevet forbrennes helt ved forlenging av inkubasjonstiden med proteinase K. |
| e) | Tilstopping av pipettespissen på grunn av uoppløselig materiale | Uoppløselig materiale ble ikke fjernet fra prøven før start av QIASymphony renseprosedyren. Ved behov, bruk forhåndsbehandlingsprosedyrer, slik som beskrevet i de tilhørende protokollbladene, for eksempel for viskøse prøvematerialer. Protokollblader er tilgjengelige på www.qiagen.com/goto/dspdnakits . |
| f) | Dårlig buffycoat-klargjøring ved bruk av buffycoat-protokoll | Påse at leukocyttfraksjonen høstes på effektiv måte. |
| g) | Lav leukocyt-telling i fullblodsprøven som brukes som startmateriale for buffycoat-klargjøringen | Hvis buffycoat-protokollen brukes, øk volumet av fullblod som brukes og hold volumet av høstede leukocytter konstant. |
| h) | Ufullstendig lysering av vev | Hvis lysatet inneholder uløselig materiale, forleng inkubasjonstiden for proteinase K. |
| i) | Pellet gikk tapt under FFPE-forhåndsbehandlingen med xylene/etanol | Observer prøvene nøye under forhåndsbehandlingen. |

DNA yter ikke bra i downstream-applikasjoner

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Utilstrekkelig DNA brukt i downstream-applikasjon | Kvantifiser rensed DNA ved spektrofotometrisk måling av absorbansen ved 260 nm (se vedlegget side 30).* |
| b) | Overflødig DNA brukt i downstream-applikasjon | Overflødig DNA kan hemme noen enzymatiske reaksjoner. Kvantifiser rensed DNA ved spektrofotometrisk måling av absorbansen ved 260 nm (se vedlegget side 30).* |

* Pass på at instrumentene er sjekket, vedlikeholdt og kalibrert regelmessig i henhold til produsentens instruksjoner.

Kommentarer og forslag

A_{260}/A_{280} -forhold for rensed DNA er lavt

Absorbansavlesing ved 320 nm ble ikke trukket fra absorbansavlesingene ved 260 nm og 280 nm

For å korrigere for tilstanden av magnetiske partikler i eluatet skal en absorbansavlesing ved 320 nm tas og trekkes fra absorbansavlesingene som ble oppnådd ved 260 nm og 280 nm (se vedlegg side 30).*

* Pass på at instrumentene er sjekket, vedlikeholdt og kalibrert regelmessig i henhold til produsentens instruksjoner.

Vedlegg: Kvantifisering, måling av renheten til DNA

Kvantifisering av DNA

Konsentrasjonen av DNA skal bestemmes ved å måle absorbansen ved 260 nm (A_{260}) i et spektralfotometer. Absorbansavlesinger ved 260 nm skal falle mellom 0,1 og 1,0 for å være nøyaktige. En absorbans på 1 enhet ved 260 nm tilsvarer 50 µg DNA per milliliter ($A_{260} = 1 = 50 \mu\text{g/ml}$).

Bruk Buffer ATE til å fortenne prøvene og kalibrere spektrofotometeret.

Forholdet mellom absorbansverdier ved 260 nm og 280 nm gir en beregning av DNA-renhet (se "Renheten av DNA") på side 31).

Mål absorbansen ved 320, 280 og 260 nm. Trekk fra absorbansavlesingen som oppnås ved 320 nm fra avlesingene som oppnås ved 260 og 280 nm for å korrigere for potensiell tilstedeværelse av bakgrunnsavlesing.

Bruk følgende formel til å beregne DNA-konsentrasjonen og -ytelsen: Konsentrasjon av DNA-prøve = $50 \mu\text{g/ml} \times (A_{260} - A_{320}) \times \text{fortynningsfaktor}$. Total mengde rensed DNA = konsentrasjon x volum av prøven i milliliter.

I tilfelle magnetiske partikler ble overført til eluatet og kan påvirke downstream-applikasjonen (f.eks. rensed DNA skal analyseres ved fluorescenskapillærsekvensiering), skal røret som inneholder eluatet først påføres en egnet magnetisk separator og eluatet overføres til et rent rør (se nedenfor).

Hvis magnetiske partikler må flyttes, påfør røret som inneholder DNA til en egnet magnetisk separator (f.eks. QIAGEN 12-Tube Magnet, kat.nr. 36912) inntil de magnetiske partiklene er separert. Hvis DNA er i mikroplater, påfør mikroplaten til en egnet magnetisk separator (f.eks. QIAGEN 96-Well Magnet Type A, kat.nr. 36915) inntil de magnetiske partiklene er separert. Hvis en egnet magnetisk separator ikke er tilgjengelig, sentrifuger røret som inneholder DNA i 1 minutt ved full hastighet i en mikrosentrifuge for å pelletere alle resterende magnetiske partikler.

Merk: For nøyaktig kvantifisering av DNA ved absorbans ved 260 nm anbefaler vi å fortynne prøven i tilsvarende elusjonsbuffer. Fortynning av prøven i vann kan føre til unøyaktige verdier. Elusjonsbuffer har høy absorbans ved 220 nm, som kan føre til høye bakgrunnsabsorbansnivåer hvis spektralfotometeret ikke er riktig nullstilt. Fordampning av eluater øker potensielt risikoen for innvirkning på målingen, spesielt når små mengder av eluater brukes uførtynnet. Ekstra elusjonsbuffer til å blanke spektrofotometeret finnes i en separat flaske med QIASymphony DSP DNA Kits.

Renhet av DNA

Renhet bestemmes ved å kalkulere forholdet til korrigert absorbans ved 260 nm til korrigert absorbans ved 280 nm; dvs., $(A_{260} - A_{320}) / (A_{280} - A_{320})$. Ren DNA har et A_{260}/A_{280} forhold på 1,7–1,9.

Bestillingsopplysninger

Produkt	Innhold	Kat.nr.
QIASymphony DSP DNA Mini Kit (192)	Inkluderer 2 reagenspatroner og enzymstativer og tilbehør	937236
QIASymphony DSP DNA Midi Kit (96)	Inkluderer 2 reagenspatroner og enzymstativer og tilbehør	937255
Related products		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	4 x 50 ml Buffer ATL for bruk med QIASymphony vevprotokoller	939016
Deparaffinization Solution (1 x 50 ml)	1 x 50 ml deparafineringsløsning for bruk med QIASymphony FFPE-vevprotokoller	939018
Accessory Trough (10)	Tilbehørskar til bruk med QIASymphony SP	997012
Reagent Cartridge Holder (2)	Reagenspatronholder til bruk med QIASymphony SP	997008
Tube Insert, 2 ml, v2, sample carrier, Qsym	Sekundær røradapter (for 2 ml skruheatterør) til bruk med QIASymphony rørbærer	9242083
Tube Insert, 11 mm, Revision, sample carrier, Qsym	Primær røradapter (11 mm) til bruk med QIASymphony rørbærer	9242057
Tube Insert, 13 mm, sample carrier, Qsym	Primær røradapter (13 mm) til bruk med QIASymphony rørbærer	9242058
Cooling Adapter, 2 ml, V2, Qsym	Kjøleadapter for 2 ml, skruheatterør. Til bruk med QIASymphony SP "Eluat"-skuff	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Kjøleadapter for EMT-stativer. Til bruk med QIASymphony SP "Eluat"-skuff	9020730

Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	1 x 50 ml deparafineringsløsning for bruk med QIASymphony FFPE-vevprotokoller	997002
8-Rod Covers (144)	Tilbehørskar til bruk med QIASymphony SP/AS	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Reagenspatronholder til bruk med QIASymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	Sekundær røradapter (for 2 ml skruheatterør) til bruk med QIASymphony rørbærer	997024
Tip Disposal Bags (15)	Primær røradapter (11 mm) til bruk med QIASymphony rørbærer	9013395
12-Tube Magnet	Primær røradapter (13 mm) til bruk med QIASymphony rørbærer	36912
96-Well Magnet Type A	Kjøleadapter for 2 ml, skruheatterør. Til bruk med QIASymphony SP "Eluat"-skuff	36915
S-Blocks (24)	Kjøleadapter for EMT-stativer. Til bruk med QIASymphony SP "Eluat"-skuff	19585
Reuse Seal Set (20)	1 x 50 ml deparafineringsløsning for bruk med QIASymphony FFPE-vevprotokoller	997006
Elution Microtubes CL (24 x 96)	Ikke-sterile polypropylenrør (0,85 ml maks. kapasitet, mindre enn 0,7 ml lagringskapasitet, 0,4 ml elusjonskapasitet); 2304 i stativer på 96; inkluderer hettestrimler	19588
QIASymphony SP	QIASymphony prøveklargjøringsmodul, 1-års garanti på deler og utførelse	9001297

For oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfrasingelser, se den respektive QIAGEN setthåndboken eller brukerhåndboken. QIAGEN setthåndbøker og brukerhåndbøker er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan forespørres fra QIAGENs tekniske tjenester eller din lokale distributør.

Denne siden skal være tom

Begrenset lisensavtale for QIAAsymphony DSP DNA-sett

Bruk av dette produktet innebærer at en kjøper eller bruker av produktet samtykker i følgende vilkår:

1. Produktet skal kun brukes i samsvar med protokollene som følger med produktet, og denne håndboken, og kun med komponentene som er inkludert i settet. QIAGEN gir ingen lisens i forhold til noen av sine opphavsrettslige produkter til å bruke eller innlemme komponenter i dette settet med komponenter som ikke er inkludert i dette settet, med unntak av det som er beskrevet i protokollene som følger med produktet, denne håndboken, og ytterligere protokoller som er tilgjengelige på www.qiagen.com. Enkelt av disse tilleggsprotokollene er laget av QIAGEN-brukere for QIAGEN-brukere. Disse protokollene har ikke blitt grundig testet eller optimalisert av QIAGEN. QIAGEN gir ingen garantier for disse eller lovnader om at de ikke krenker rettighetene til tredjeparter.
2. QIAGEN gjør ingen garantier for at denne pakken og/eller bruksområdene ikke krenker rettighetene til tredjeparter bortsett fra tydelig uttrykte lisenser.
3. Dette settet og komponentene i det er lisensiert til engangsbruk og kan ikke brukes flere ganger, modifiseres eller selges på nytt.
4. QIAGEN frasier seg spesifikt andre lisenser, uttrykt eller antydnet, bortsett fra det som er uttrykkelig oppgitt.
5. Kjøperen og brukeren av settet samtykker i å ikke la noen andre gjøre noe som kan føre til handlinger som er forbudt ovenfor. QIAGEN kan håndheve forbud i denne begrensede lisensavtalen i en hvilken som helst domstol, og skal få tilbake alle sine forskende og domstolskostnader, inkludert advokathonorarer, i noen handling for å håndheve denne begrensede lisensavtalen eller noen av sine immaterielle rettigheter i forhold til settet og/eller komponentene.

For oppdaterte lisensvilkår se www.qiagen.com.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAAsymphony®, QIAcube® (QIAGEN Group); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Registrerte navn, varemerker osv. som er brukt i dette dokumentet, selv når de ikke er spesifikt merket som dette, skal ikke anses som ubeskyttet av loven. 08/2015 HB-0977-004

© 2012–2015 QIAGEN, alle rettigheter forbeholdt.

Ordering www.qiagen.com/contact | Technical Support support.qiagen.com | Website www.qiagen.com