

QIASymphony SP Protocol Sheet

DNA_Buffy_Coat_200_V7 DSP protokol

Základní informace

Použití pro in vitro diagnostiku.

Tento protokol je o izolaci celkové genomické a mitochondriální DNA z čerstvých nebo zmražených buffy coat, používající QIASymphony® SP a QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

Kit	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (cat. no. 937236)
Výchozí materiál	Buffy coat (EDTA, citrate, or heparin anti-coagulated)
Název protokolu	DNA_BC_200_V7_DSP
Default Assay Control Set	ACS_BC_200_V7_DSP
Nastavitelný parametr	Eluční objem: 200 µl, 300 µl, 400 µl
Doporučená verze softwaru	Verze 4.0

Září 2012



Sample & Assay Technologies

Box na vzorek

Typ vzorku	Buffy Coat (EDTA, citrate nebo heparin anti-coagulated)
Objem vzorku	Záleží na typu zkumavky, více informací na: www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Primární zkumavka	Více informací na: www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Sekundární zkumavka	Více informací na: www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Insert	Záleží na typu zkumavky, více informací na: www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

Box na reagentie a spotřební materiál

Pozice A1 nebo □2	Reagenční zásobník
Pozice B1	Nepoužitelný
Držák špiček 1–17	Jednorázové špičky s filtrem, 200 µl nebo 1500 µl
Držák na unit boxy 1–4	Unit boxy obsahují izolační zásobník nebo 8-Rod Covers

Box na odpad

Držák na unit boxy 1–4	Prázdné unit boxy
Držák na odpad	Odpadkový koš
Držák na tekutý odpad	Prázdňá láhev na tekutý odpad

Elučňí box

Přihrádka na eluci	více informací naleznete na: www.qiagen.com/goto/dsphandbooks . (doporučujeme použít pozici 1, chlazená pozice)
---------------------------	--

Vyžadovaný spotřební plast

	jedna dávka, 24 vzorků *	Dvě dávky, 48 vzorků *	Tři dávky, 72 vzorků *	Čtyři dávky, 96 vzorků*
Jednorázové špičky s filtrem, 200 µl ^{†‡}	2	2	2	2
Jednorázové špičky s filtrem, 1500 µl ^{†‡}	110	212	314	416
Izolační zásobník [§]	18	36	54	72
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Použití méně než 24 vzorků v jednom běhu snižuje množství jednorázových špiček s filtrem potřebných na jeden běh.

† Je zde 32 špiček s filtrem/tip rack.

‡ potřebný počet špiček zahrnuje špičky pro zjištění zásob v reagenčním zásobníku.

§ Je zde 28 izolačních zásobníků /unit box.

¶ Je zde dvanáct 8-Rod Covers/unit box.

Poznámka: Stanovený počet špiček se může lišit s počtem špiček zobrazených na displeji.

Doporučujeme vložit nejvyšší možný počet špiček. :-)*

Eluční objem

Eluční objem je vybrán na displeji. V závislosti na typu vzorku a obsahu DNA se konečný eluční objem může lišit až o 15 µl proti zvolenému objemu. Díky tomu, že se eluční objem může lišit, doporučujeme zkontrolovat aktuální eluční objem pokud je používán automatizovaný assay setup, který nemůže ověřit eluční objem dříve než je uskutečněn přenos do AS modulu. Eluce v nižším objemu zvyšuje finální koncentraci DNA, ale snižuje celkový výtěžek. Doporučujeme použít eluční objem vhodný pro následné plánované aplikace.

Příprava vzorku

Pokud pracujete s chemikáliemi vždy noste vhodný oděv do laboratoře, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Pro více informací nahlédněte do příslušných bezpečnostních listů dostupných u dodavatele.

Důležité upozornění před začátkem

- QIASymphony magnetické částice mohou izolovat také RNA pokud je přítomna ve vzorku. Pro minimalizaci obsahu RNA ve vzorku, přidejte RNAsu A do vzorku před začátkem procesu. Konečná koncentrace by měla být 2 mg/ml.

Buffy coat

Buffy coat je frakce z plné krve, obohacená o leukocyty. Účinnost obohacení o leukocyty závisí na správném postupu přípravy buffy coat vrstvy. Připravte buffy coat stočením krevních vzorků, obsahujících standardní antikoagulant (EDTA, citrate nebo heparin) při 900–1100 x g na 10 minut při pokojové teplotě (15–25°C). Po stočení jsou rozpoznatelné 3 frakce: horní vrstva je plazma, střední vrstva je buffy coat, obsahující koncentrované leukocyty; spodní vrstva obsahuje koncentrované červené krvinky. Z 10 ml stočené krve můžeme získat cca 1ml leukocytů, což je v průměru asi 5–6x obohacení, např. 10 ml krve s bílými krvinkami napočítá 6×10^6 buněk/ml obsahujícím 1 ml buffy coat. V případě 5x obohacení bílých krvinek bude obsahovat 3×10^7 buněk/ml. Proto v protokolu, kde se používá 200 µl buffy coat, bude použito 6×10^6 buněk.

Proti zahlcení procesu DNA izolace nepřipravujte buffy coat vzorky s >10x obohacením. Pokud jsou buffy coat vzorky >10x obohacené, zředte vzorky pomocí PBS na 10x obohacené či méně nebo použijte menší množství výchozího materiálu.

Buffy coat vzorky mohou být použity okamžitě nebo skladovány při –20°C až –70°C pro pozdější izolaci DNA. Zmrzlé vzorky by se měly rozmrazovat ve vodní lázni při 37°C za mírného třepání, aby se vzorky důkladně promíchaly. Před začátkem procesu je necháme ustálit při pokojové teplotě (15–25°C). Pro zajištění spolehlivého přenosu vzorku je potřeba vyhnout se vytvoření pěny ve zkumavce. Snažte se vyhnout sraženině ve vzorku, pokud je to nezbytné přeneste vzorek do nové zkumavky bez sraženiny.

Aktuální licenční informace a produktově specifické požadavky právní doložky specifické pro produkty naleznete v příslušných příručkách a uživatelských manuálech QIAGENU. Příručky a uživatelské manuály QIAGENU jsou dostupné na www.qiagen.com nebo na vyžádání u QIAGEN Technical Services nebo u Vašeho místního distributora.

Trademarks: QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Registered names, trademarks, etc. used in this document, even when not specifically marked as such, are not to be considered unprotected by law.
© 2012 QIAGEN, all rights reserved.



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