

# QIASymphony SP Protokollblatt

---

## Protokoll: DNA\_Buffy\_Coat\_400\_V6\_DSP

### Allgemeine Informationen

Für in-vitro-diagnostische Anwendungen.

Dieses Protokoll ist für die Reinigung von genomischer Gesamt-DNA und mitochondrialer DNA aus frischem oder gefrorenem Buffy Coat mithilfe des QIASymphony® SP und des QIASymphony DSP DNA Midi Kits vorgesehen.

<b>Kit</b>	QIASymphony DSP DNA Midi Kit (Kat.-Nr. 937255)
<b>Probenmaterial</b>	Buffy Coat (mit EDTA, Citrat oder Heparin als Antikoagulans)
<b>Protokollname</b>	DNA_BC_400_V6_DSP
<b>Standard-Assay-Kontroll-Set</b>	ACS_BC_400_V6_DSP
<b>Editierbare Parameter</b>	Elutionsvolumen: 200 µl, 400 µl
<b>Erforderliche Software-Version</b>	Version 4.0

September 2012



---

Sample & Assay Technologies

## „Sample“-Schublade

<b>Probentyp</b>	Buffy Coat (mit EDTA, Citrat oder Heparin als Antikoagulans)
<b>Probenvolumen</b>	Hängt vom verwendeten Probenröhrchen-Typ ab; weitere Informationen siehe <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .
<b>Primärprobenröhrchen</b>	n. z.
<b>Sekundärprobenröhrchen</b>	Weitere Informationen siehe <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .
<b>Einsätze</b>	Hängt vom verwendeten Probenröhrchen-Typ ab; weitere Informationen siehe <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .

n. z. = nicht zutreffend

## „Reagents and Consumables“-Schublade

<b>Position A1 und/oder A2</b>	Reagenzienkartusche
<b>Position B1</b>	n. z.
<b>Tip-Rack-Halter 1–17</b>	Einmal-Filterpipettenspitzen, 200 µl oder 1500 µl
<b>Container-Halter 1–4</b>	Container mit Probenverarbeitungs-Einsätzen oder 8-Magnetstab-Schutzhülsen

n. z. = nicht zutreffend

## „Waste“-Schublade

<b>Container-Halter 1–4</b>	Leere Verbrauchsartikel-Container
<b>Abfallbeutel-Halter</b>	Abfallbeutel
<b>Flüssigabfallflaschen-Halter</b>	Leere Flüssigabfallflasche

## „Eluate“-Schublade

Elutions-Rack (wir empfehlen, Weitere Informationen siehe  
Stellplatz 1 – die Kühlposition – [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks).  
zu verwenden)

## Benötigte Kunststoff-Verbrauchsartikel

	Eine Proben- Charge, 24 Proben*	Zwei Proben- Chargen, 48 Proben*	Drei Proben- Chargen, 72 Proben*	Vier Proben- Chargen, 96 Proben*
Einmal-Filterpipet- tenspitzen, 200 µl <sup>†‡</sup>	4	4	4	8
Einmal-Filterpipet- tenspitzen, 1500 µl <sup>†‡</sup>	110	212	314	424
Probenverarbeitungs- Einsätze <sup>§</sup>	18	36	54	72
8-Magnetstab- Schutzhülsen <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* Bei Verarbeitung von weniger als 24 Proben pro Charge verringert sich die Anzahl der pro Lauf benötigten Einmal-Filterpipettenspitzen entsprechend.

<sup>†</sup> Ein Tip-Rack enthält 32 Filter-Pipettenspitzen.

<sup>‡</sup> Bei der Anzahl der benötigten Filter-Pipettenspitzen sind die Spitzen für einen Inventar-Scan pro Reagenzienkartusche berücksichtigt.

<sup>§</sup> Ein Verbrauchsartikel-Container enthält 28 Probenverarbeitungs-Einsätze.

<sup>¶</sup> Ein Verbrauchsartikel-Container enthält zwölf 8-Magnetstab-Schutzhülsen.

**Hinweis:** Die angegebene Anzahl Filter-Pipettenspitzen kann, in Abhängigkeit von den Einstellungen, von der im Touchscreen-Display angezeigten Anzahl abweichen. Wir empfehlen, die maximal mögliche Anzahl Pipettenspitzen zu laden.

## Elutionsvolumen

Das Elutionsvolumen wird im Touchscreen-Display ausgewählt. In Abhängigkeit von Probenart und DNA-Gehalt kann das endgültige Eluatvolumen um bis zu 15  $\mu$ l kleiner sein als das gewählte Volumen. Aufgrund der Tatsache, dass das Eluatvolumen variieren kann, empfehlen wir, das tatsächliche Eluatvolumen zu kontrollieren, wenn Sie ein automatisiertes System für das Assay-Setup verwenden, bei dem das Eluatvolumen nicht vor dem Transfer bestimmt wird. Bei Elution in geringeren Volumina erhöht sich die DNA-Endkonzentration, jedoch verringert sich dadurch die Ausbeute etwas. Wir empfehlen, ein Elutionsvolumen zu verwenden, das für die vorgesehene nachfolgende Applikation geeignet ist.

## Vorbereitung des Probenmaterials

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Schutzhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheits-Datenblättern (*Material Safety Data Sheets, MSDS*) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

## Wichtiger Hinweis vor Beginn

- Sofern RNA in der Probe vorhanden ist, wird sie von den QIASymphony Magnet-Partikeln evtl. mitgereinigt. Um den RNA-Gehalt in der Probe zu minimieren, geben Sie RNase A in die Probe, bevor Sie mit der Präparation beginnen. Die RNase-A-Endkonzentration sollte 2 mg/ml betragen.

## Buffy Coat

Buffy Coat bezeichnet eine Fraktion des Vollbluts, in der die Leukozyten angereichert sind. Die Effizienz der Leukozytenanreicherung hängt vom jeweiligen Verfahren ab, nach dem der Buffy Coat präpariert wird, und von der Präzision, mit der die Buffy-Coat-Schicht aus dem Zentrifugenröhrchen entnommen wird. Präparieren Sie den Buffy Coat aus Vollblutproben, die ein Standard-Antikoagulans (EDTA, Citrat oder Heparin) enthalten, durch Zentrifugation bei 900–1100 x g für 10 Minuten bei Raumtemperatur (15–25 °C). Nach der Zentrifugation lassen sich drei Fraktionen unterscheiden: die obere klare Schicht, das Plasma, die mittlere Schicht mit den angereicherten Leukozyten, der Buffy Coat, und die untere Schicht, die aus den konzentrierten Erythrozyten besteht. Aus 10 ml zentrifugiertem Vollblut sollte ca. 1 ml leukozytenhaltige Fraktion gewonnen werden, was, im Durchschnitt, einer 5- bis 6-fachen Anreicherung entspricht. Beispiel: 10 ml Vollblut mit einer Leukozytenzahl von  $6 \times 10^6$  Zellen/ml ergibt 1 ml Buffy Coat. Unter der Annahme einer 5-fachen Anreicherung der Leukozyten entspricht dies  $3 \times 10^7$  Zellen/ml. Bei einem Protokoll mit 400  $\mu$ l Buffy Coat als Ausgangsmaterial werden also  $1,2 \times 10^7$  Zellen eingesetzt.

Buffy-Coat-Proben mit mehr als 10-facher Anreicherung sollten nicht verwendet werden, um die Beladungskapazität des DNA-Reinigungsverfahrens nicht zu überschreiten. Falls Buffy-Coat-Proben mehr als 10-fach angereichert sind, verdünnen Sie die Proben entsprechend (auf 10-fache Anreicherung oder geringer) mit PBS oder setzen Sie weniger Ausgangsmaterial für das DNA-Reinigungsprotokoll ein.

Buffy-Coat-Proben können direkt eingesetzt oder bei –20 °C oder –70 °C gelagert werden, wenn die DNA zu einem späteren Zeitpunkt gereinigt werden soll. Gefrorene Proben sollten zügig in einem Wasserbad bei 37 °C aufgetaut werden; dabei sollten sie leicht geschüttelt werden, um gründliches Mischen sicherzustellen. Lassen Sie sie dann auf Raumtemperatur (15–25 °C) äquilibrieren, bevor Sie mit der Präparation beginnen. Vermeiden Sie Schaumbildung in den Probenröhrchen, um einen zuverlässigen Probentransfer sicherzustellen. Blutgerinnsel in den Proben sollten vermieden werden; falls erforderlich, überführen Sie die Probe ohne Gerinnsel in ein neues Röhrchen.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Anwendungseinschränkungen finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit- oder Geräte-Handbuch. QIAGEN Kit- und Geräte-Handbücher stehen unter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) zur Verfügung oder können Sie vom QIAGEN Technischen Service oder dem für Sie zuständigen Außendienstmitarbeiter oder Distributor anfordern.

Warenzeichen/Markennamen: QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN-Gruppe). Es kann nicht davon ausgegangen werden, dass die in diesem Dokument verwendeten Markennamen oder Warenzeichen ungeschützt sind, auch wenn sie nicht als Markenname oder Warenzeichen gekennzeichnet sind.  
© 2012 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

**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**