

Bruksanvisning för QIASymphony[®] DSP DNA Mini Kit (protokollblad)

DNA_Buffy_Coat_200_V7 DSP-protokoll

Version 2

IVD

För in vitro-diagnostisk användning

För användning med QIASymphony DSP DNA Mini Kit (192)



REF

937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1

Protokollbladet finns tillgängligt elektroniskt och finns under resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com.

Allmän information

QIASymphony DSP DNA Kit är avsett för in vitro-diagnostisk.

Detta protokoll är avsett för rening av totalt genomiskt och mitokondriellt DNA från färskt eller fryst humant helblod med användning av QIASymphony SP och QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

Kit	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (kat.nr 937236)
Provmaterial	Buffy coat (antikoagulerad med EDTA, citrat eller heparin)
Protokollnamn	DNA_BC_200_V7_DSP
Förvald analyskontrolluppsättning	ACS_BC_200_V7_DSP
Redigerbar	Elueringsvolym: 200, 300 och 400 µl
Nödvändig programversion	Version 4.0 eller senare
Obligatorisk programvarukonfiguration för IVD-användning	Standardprofil 1

Lådan "Sample" (prov)

Provtyp	Humant helblod (antikoagulerat med EDTA, citrat eller heparin)
Provvolymer	Beror på typ av provrör som används, Mer information finns i labbmateriellistan, som finns i resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com .
Primära provrör	Ej relevant
Sekundära provrör	Mer information finns i labbmateriellistan, som finns i resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com .
Insatser	Beror på typ av provrör som används, Mer information finns i labbmateriellistan, som finns i resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com .

n/a = ej relevant.

Lådan "Reagents and Consumables" (reagens och förbrukningsmaterial)

Position A1 och/eller A2	Reagenskasset (RC)
Position B1	Ej relevant
Spetsrackhållare 1-17	Engångsfilterspetsar, 200 µl eller 1500 µl
Hållare för enhetslådor 1-4	Enhetslådor som innehåller provprepareringskassetter eller 8-Rod Covers

n/a = ej relevant.

Lådan "Waste" (avfall)

Hållare för enhetslådor 1-4	Tomma enhetslådor
Avfallspåshållare	Avfallspåse
Hållare för flaska för flytande avfall	Tom flaska för flytande avfall

Lådan "Eluate" (eluat)

Elueringsställ (vi rekommenderar att uttag 1, kylpositionen, används)

Mer information finns i labbmateriellistan, som finns i resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com.

Erforderliga plastartiklar

Plastartiklar	En batch, 24 prover*	Två batcher, 48 prover*	Tre batcher, 72 prover*	Fyra batcher, 96 prover*
Disposable filter-tips, 200 µl†	2	2	2	2
Disposable filter-tips, 1500 µl†	110	212	314	416
Sample prep cartridges§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Om färre än 24 prover per batch används minskas antalet engångsfilterspetsar som krävs per körning.

† Det finns 32 filterspetsar/spetsställ.

‡ Antalet filterspetsar som krävs inbegriper filterspetsar för 1 inventarieskanning per RC.

§ Det finns 28 provberedningskassetter/enhetslåda.

¶ Det finns tolv 8-Rod Covers/enhetslåda.

OBS! Beroende på inställningarna kan antalet givna filterspetsar skilja sig från de siffror som visas på pekskärmen. Vi rekommenderar att det maximala antalet spetsar laddas.

Elueringsvolym

Elueringsvolymen väljs på pekskärmen. Beroende på provtyp och DNA-innehåll kan den slutliga elueringsvolymen variera med upp till 15 µl mindre än den valda volymen. Eftersom elueringsvolymen kan variera rekommenderar vi att du kontrollerar den faktiska elueringsvolymen vid användning av ett automatiserat analysinställningssystem som inte verifierar elueringsvolymen innan överföringen. Eluering i lägre volymer ökar den slutliga DNA-koncentrationen, men reducerar mängden något. Vi rekommenderar att du använder en elueringsvolym som är lämplig för den avsedda nedströmstillämpningen.

Förberedelse av provmaterial

Använd alltid laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Mer information finns i tillämpliga säkerhetsdatablad (Safety Data Sheets, SDS) som kan erhållas av respektive tillverkare.

För allmänna rekommendationer om insamling, transport och förvaring se godkänd CLSI -riktlinje MM13-A "Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods". Vidare skall tillverkarens instruktioner för vald provinsamlingsenhet följas under provberedning, förvaring, transport och allmän hantering.

Buffy coat

Buffy coat är en leukocytberikad fraktion av helblod. Leukocytberikningens effektivitet beror på vilken metod som använts för att bereda buffy coat och med vilken noggrannhet som buffy coat-skiktet extraheras. Bered buffy coat genom att centrifugera helblodprover som innehåller en standardantikoagulant (EDTA, citrat eller heparin) vid 900-1 100 x g i 10 minuter vid rumstemperatur (15-25 °C). Efter centrifugering kan 3 olika fraktioner urskiljas: det övre, genomskinliga skiktet är plasma, mellanskiktet är buffy coat som innehåller

koncentrerade leukocyter, och bottenskiktet innehåller koncentrerade erythrocyter. Cirka 1 ml fraktion med leukocyter ska skördas från 10 ml centrifugerat helblod, vilket i genomsnitt ger en berikning på 5-6 gånger. Exempelvis resulterar 10 ml helblod med ett antal vita blodceller på 6×10^6 celler/ml i 1 ml buffy coat. Förutsatt en 5 gångers berikning av vita blodceller leder detta till 3×10^7 celler/ml. I ett protokoll där man använder 200 μ l buffy coat kommer därför 6×10^6 celler att användas.

För att undvika att överbelasta DNA-reningsproceduren ska du inte bereda buffy coat-prover med en beriktning på >10 gånger. Om buffy coat-prover har en beriktning på >10 gånger späder du proven till en beriktning på 10 gånger eller mindre med PBS eller använder mindre startmaterial i DNA-reningsproceduren.

Buffy coat-prov kan användas omedelbart, förvaras under kort tid i upp till 7 dagar vid 2-8°C eller förvaras vid -20°C eller -80°C för DNA-rening senare. Frysta prover ska tinas snabbt i ett vattenbad på 37 °C med lätt omrörning för att säkerställa en noggrann blandning och därefter utjämnas till rumstemperatur (15-25 °C) innan proceduren inleds. För att säkerställa en pålitlig provöverföring bör skumbildning i provrören undvikas. Försök att undvika blodklumpar i proven och överför vid behov provet utan klumpar till ett nytt rör.

OBS! Provstabilitet beror på olika faktorer och relaterar till den specifika nerströmsapplikationen. Det är användarens ansvar att konsultera bruksanvisningen för specifika nerströmsapplikationer som används i deras laboratorier och/eller validera hela arbetsflödet för att etablera tillämpliga för.

Förvaring av eluat

Vi rekommenderar att du tar ut eluatplattan från lådan "Eluate" (eluat) omedelbart efter att körningen är slutförd. Elueringsplattor kan lämnas kvar i QIASymphony SP när körningen slutförs på natten (maximalt 12 timmar inklusive körningstiden; rekommenderade miljöförhållanden: 18-26 °C och 20-75 % relativ luftfuktighet). Beroende på temperatur och luftfuktighet kan eluat kondensera eller avdunsta.

För korttidsförvaring kan eluat kan förvaras i rumstemperatur i upp till 2 veckor. För lång tid rekommenderar vi förvaring vid 2-8°C, -20°C eller -80°C. Frusna eluat får inte tinas upp mer än 3 gånger.

OBS! Eluatstabilitet beror på olika faktorer och relaterar till den specifika nedströmsappliceringen. Det har etablerats för QIASymphony DSP DNA Mini Kit tillsammans med nerströmsapplikationer som exempel. Det är användarens ansvar att konsultera bruksanvisningen för specifika nerströmsapplikationer som används i deras laboratorier och/eller validera hela arbetsflödet för att etablera tillämpliga för.

Viktigt moment före start

- QIASymphony magnetiska partiklar kan samtidigt rena RNA om det finns i provet. För att minimera RNA-innehållet i provet tillsätter du RNase A till provet innan proceduren inleds. Den slutliga RNase A-koncentrationen ska vara 2 mg/ml.

Begränsningar och interfererande ämnen





Blodprov med höga koncentrationer av triglycerider (>30 g/l) kan leda till reducerad gDNA-samling.

OBS! Observera att det under utvecklingen av QIASymphony DSP DNA Mini Kit inte observerades några indikationer att heparin har en negativ effekt på prestandan. Enligt ISO 20186-2:2019(E) kan dock heparin från blodprovtagningsrör påverka renheten av isolerade nukleinsyror och möjlig överföring (carryover) till eluat vilket kan orsaka störningar i vissa nerströmsapplikationer. Därför är det användarens ansvar att validera om heparin har en negativ påverkan på deras arbetsflöde.

OBS! Tester utfördes med nerströmsapplikationer som exempel för en bedömning av kvaliteten av extraherade nukleinsyror. Dock kan olika nerströmsapplikationer ha olika krav avseende renhet (dvs. frånvaro av potentiellt interfererande ämnen), så att identifieringen och testningen av relevanta ämnen också måste etableras som en del av utvecklingen av nerströmsapplikationen för alla arbetsflöden som involverar QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

Symboler

Följande symboler förekommer i detta dokument. För en komplett lista med symboler som används i bruksanvisningen eller på förpackningen eller etiketterna, se handboken.

Symbol	Symbolförklaring
	Den här produkten uppfyller kraven i Europeisk Regel 2017/746 för in vitro-diagnostiska medicintekniska enheter.
	In vitro-diagnostisk medicinteknisk enhet
	Katalognummer
Rn	R betyder revidering av bruksanvisningen och n är revisionsnumret
	Tillverkare

Revisionshistorik

Revision	Beskrivning
R1, juni 2022	<p>Version 2, revision 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Uppdatera till version 2 för efterlevnad med IVD• Tillägg av avsnitt Begränsningar och interfererande ämnen• Tillägg av avsnitt Förvaring av eluat• Tillägg av avsnitt Symboler• Uppdatering av avsnitt Förberedelse av provmaterial

Aktuell licensinformation och produktspecifika ansvarsfriskrivningar finns i handboken eller bruksanvisningen till respektive QIAGEN®-kit. Handböcker och bruksanvisningar till QIAGEN-kit finns på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN tekniska service eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN-gruppen). Registrerade namn, varumärken med mera som används i detta dokument ska inte anses som oskyddade enligt lag, även om de inte uttryckligen anges som skyddade. 06/2022 HB-3029-S04-001 © 2022 QIAGEN, med ensamrätt.