

Bruksanvisning (protokollskjema) for QIAsymphony[®] DSP DNA Mini Kit

DNA_Buffy_Coat_200_V7 DSP-protokollen

Versjon 2



Til in vitro-diagnostikk

Til bruk sammen med QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (192)



937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1

Protokollbladet finnes elektronisk under ressursfanen på produktsiden på www.qiagen.com.

Generell informasjon

QIAasymphony DSP DNA Kit er beregnet på bruk i in vitro-diagnostikk.

Denne protokollen er for rensing av totalt genomisk og mitokondrialt DNA fra ferskt eller fryst humant fullblod ved hjelp av QIAasymphony SP og QIAasymphony DSP DNA Mini Kit.

Sett	QIAasymphony DSP DNA Mini Kit (kat.nr. 937236)
Prøvemateriale	Buffycoat (EDTA, sitrat eller heparin, antikoaguleret)
Protokollnavn	DNA_BC_200_V7_DSP
Standard analysekontrollsett	ACS_BC_200_V7_DSP
Redigerbar	Elusjonsvolum: 200, 300 og 400 µl
Nødvendig programvareversjon	Versjon 4.0 eller høyere
Nødvendig programvarekonfigurering for IVD-bruk	Standardprofil 1

Skuffen «Sample» (Prøve)

Prøvetype	Humant fullblod (EDTA, sitrat eller heparin, antikoaguleret)
Prøvevolum	Avhenger av typen prøverør som brukes. Du finner mer informasjon i listen over laboratoriestyr. Du finner listen under fanen for ressurser på produksiden på www.qiagen.com .
Primære prøverør	I/R
Sekundære prøverør	Du finner mer informasjon i listen over laboratoriestyr. Du finner listen under ressursfanen på produksiden på www.qiagen.com .
Innlegg	Avhenger av typen prøverør som brukes. Du finner mer informasjon i listen over laboratoriestyr. Du finner listen under fanen for ressurser på produksiden på www.qiagen.com .

I/R = ikke relevant.

Skuffen «Reagents and Consumables» (Reagenser og forbruksartikler)

Posisjon A1 og/eller A2	Reagenskasset (RC)
Posisjon B1	I/R
Spisstativholder 1–17	Engangsfilterspisser, 200 or 1500 µl
Enhetsbokholder 1–4	Enhetsbokser inneholder prøveklargjøringskassetter eller 8-Rod Covers

I/R = ikke relevant.

Skuffen «Waste» (Avfall)

Enhetsbokholder 1–4	Tomme enhetsbokser
Avfallsposeholder	Avfallspose
Holder for væskeavfallsflasker	Tom væskeavfallsflasker

Skuffen «Eluate» (Eluat)

Elusjonsstativ (vi anbefaler bruk av spor 1, kjøleposisjon)

Du finner mer informasjon i listen over laboratoriestyr. Du finner listen under ressursfanen på produktsiden på www.qiagen.com.

Nødvendige plastdeler

Plastdeler	Ett parti, 24 prøver*	To partier, 48 prøver*	Tre partier, 72 prøver*	Fire partier, 96 prøver*
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

* Bruk av mindre enn 24 prøver per omgang reduserer antall engangsfilterspisser som kreves per kjøring.

† Det er 32 filterspisser/spisstativ.

‡ Antall nødvendige filterspisser inkluderer filterspisser for 1 inventarskanning per RC.

§ Det finnes 28 prøveklargjøringskassetter/enhetsboks.

¶ Det finnes tolv 8-Rod Covers / enhetsboks.

Merk: Antall angitte filterspisser kan avvike fra antallene vist på berørings skjermen avhengig av innstillinger. Vi anbefaler å laste maksimalt antall mulige spisser.

Elusjonsvolum

Elusjonsvolumet velges på berørings skjermen. Avhengig av prøvetype og DNA-innhold kan endelig eluatvolum variere med inntil 15 µl mindre enn valgt volum. Fordi eluatvolumet kan variere, anbefaler vi å kontrollere det faktiske eluatvolumet ved bruk av et automatisk analyseoppsettssystem som ikke verifiserer eluatvolumet før overføringen. Elusjon i lavere volum øker den endelige DNA-konsentrasjonen, men reduserer utbyttet noe. Vi anbefaler å bruke et elusjonsvolum egnet for den tiltenkte nedstrømsapplikasjonen.

Klargjøring av prøvematerialer

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller under arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablad (SDS) som leveres av leverandøren av produktet, hvis du ønsker mer informasjon.

Generelle anbefalinger om prøvetaking, -transport og -oppbevaring finnes i den godkjente CLSI-veiledningen MM13-A «Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods» (Prøvetaking, -transport, -klargjøring og -oppbevaring for molekylære metoder). Produsentens bruksanvisning for den utvalgte prøvetakingsenheten skal videre følges under prøveklargjøring, oppbevaring, transport og generell håndtering.

Buffycoat

Buffycoat er en leukocytanrikt fraksjon av fullblod. Effektiviteten til leukocytanriking er avhengig av prosedyren som brukes for å klargjøre buffycoat og med hvilken nøyaktighet buffycoatlaget blir ekstrahert. Klargjør buffycoat ved å sentrifugere fullblodsprøver med et standard antikoagulerende middel (EDTA, citrat eller heparin) ved 900–1100 x g i 10 minutter ved romtemperatur (15–25 °C). Etter sentrifugering kan 3 forskjellige fraksjoner skilles: Det øvre klare laget er plasma, det midtre laget er buffycoat, med konsentrerte leukocytter, og det nedre

laget inneholder konsentrerte erythrocytter. Cirka 1 ml leukocytfraksjon høstes fra 10 ml sentrifugert fullblod som i gjennomsnitt gir en 5–6 ganger anriking. 10 ml fullblod med en telling av hvite blodlegemer på 6×10^6 celler/ml resulterer for eksempel i 1 ml buffycoat. Antas en 5 gangers anriking av hvite blodlegemer, fører dette til 3×10^7 celler/ml. I en protokoll som bruker 200 μ l buffycoat, vil 6×10^6 celler bli brukt.

For å unngå overbelastning av DNA-rensesprosedyren bør man ikke klargjøre buffycoatprøver på > 10 ganger anriking. Hvis buffycoatprøver er anriket > 10 ganger, fortynnes prøvene til 10 ganger anriking eller mindre med PBS eller bruk mindre startmateriale i DNA-rensesprosedyren.

Buffycoatprøver kan brukes umiddelbart, oppbevares for korttidsoppbevaring i opptil 7 dager ved 2–8 °C eller oppbevares ved –20 °C eller –80 °C for rensing av DNA ved en senere dato. Fryste prøver bør tines raskt i vannbad på 37 °C ved forsiktig risting for å sikre grundig blanding og så bringes til romtemperatur (15–25 °C) før prosedyren starter. Unngå at det dannes skum i prøverørene. Da sikrer du pålitelig prøveoverføring. Forsøk å unngå koagler i prøvene og overfør om nødvendig prøven uten koagler til et nytt rør.

Merk: Prøvestabilitet avhenger mye av forskjellige faktorer og er knyttet til den spesifikke nedstrømsapplikasjonen. Det er brukerens ansvar å se bruksanvisningen for den spesifikke nedstrømsapplikasjonen i laboratoriet og/eller godkjenne hele arbeidsflyten for å fastsette egnede oppbevaringsvilkår.

Oppbevaring av eluater

Det er anbefalt at eluatplaten fjernes fra skuffen «Eluate» (Eluat) umiddelbart etter at kjøringen er ferdig. Elusjonsplater kan stå igjen i QIASymphony SP etter at kjøringen er fullført over natten (maksimalt 12 timer inkludert kjøretid med følgende anbefalte miljøbetingelser: 18–26 °C og 20–75 % relativ luftfuktighet). Avhengig av temperatur og fuktighet kan eluatet bli utsatt for kondens eller damp.

Ved korttidsoppbevaring kan eluater oppbevares ved romtemperatur i opptil 2 uker. Ved langtidsoppbevaring anbefaler vi oppbevaring ved 2–8 °C, –20 °C eller –80 °C. Fryste eluater må ikke tines mer enn 3 ganger.

Merk: Eluatstabilitet avhenger mye av forskjellige faktorer og er knyttet til den spesifikke nedstrømsapplikasjonen. Det er fastsatt for QIASymphony DSP DNA Mini Kit sammen med eksempler på nedstrømsapplikasjoner. Det er brukerens ansvar å se bruksanvisningen for den spesifikke nedstrømsapplikasjonen i laboratoriet og/eller godkjenne hele arbeidsflyten for å fastsette egnede oppbevaringsvilkår.

Viktig punkt før du starter

- QIASymphony magnetpartikler kan korense RNA hvis det er til stede i prøven. Tilsett RNase A til prøven før prosedyren startes for å minimere RNA-innholdet i prøven. Endelig RNase A-konsentrasjon skal være 2 mg/ml.

Begrensninger og interfererende stoffer





Blodprøver med høye konsentrasjoner av triglyserider (> 30 g/l) kan føre til redusert gDNA-utbytte.

Merk: Merk at det under utvikling av QIASymphony DSP DNA Mini Kit ikke ble sett indikasjoner på at heparin har en negativ påvirkning på ytelsen. ISO 20186-2:2019(E) angir imidlertid at heparin fra blodprøvetakingsrør kan påvirke de isolerte nukleinsyrenes renhet, og mulig medrivning over i eluater kan forårsake hemninger i noen nedstrømsapplikasjoner. Det er derfor brukerens ansvar å godkjenne om heparin påvirker arbeidsflyten negativt.

Merk: Testing ble utført ved hjelp av eksempler på nedstrømsapplikasjoner for å vurdere kvaliteten på de ekstraherte nukleinsyrene. Forskjellige nedstrømsapplikasjoner kan imidlertid ha forskjellige krav med hensyn til renhet (dvs. fravær av potensielle interfererende stoffer), så identifisering og testing av relevante stoffer må også fastsettes som en del av utviklingen av nedstrømsapplikasjonen for arbeidsflyt som omfatter QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

Symboler

Følgende symboler vises i dette dokumentet. En fullstendig liste over benyttede symboler i bruksanvisningen eller på emballasjen og merkingen finnes i håndboken.

Symbol	Symboldefinisjon
	Dette produktet oppfyller kravene i den europeiske bestemmelsen 2017/746 for in vitro-diagnostiske medisinske enheter.
	In vitro-diagnostisk medisinsk enhet
	Katalognummer
Rn	R står for revisjon av bruksanvisningen, og n står for revisjonsnummeret
	Produsent

Endringshistorikk

Revisjon	Beskrivelse
R1, juni 2022	Versjon 2, revisjon 1 <ul style="list-style-type: none">• Oppdatering til versjon 2 for samsvar med IVD• Innsetting av avsnittet Begrensninger og interfererende stoffer• Innsetting av avsnittet Oppbevaring av eluater• Innsetting av avsnittet Symboler• Oppdatering av avsnittet Klargjøring av prøvemateriale

Oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser finnes i den respektive håndboken eller brukerhåndboken for QIAGEN®-settet. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN-sett er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan leveres fra QIAGENS tekniske serviceavdeling eller den lokale distributøren.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (QIAGEN Group). Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke anses som ubeskyttet av lov, selv når de ikke er spesielt merket som sådan.
06/2022 HB-3029-S04-001 © 2022 QIAGEN. Med enerett.