

December 2017

# Protocolblad QIASymphony<sup>®</sup> SP

DNA\_Buffy\_Coat\_200\_V7 DSP-protocol

Dit document is het *QIASymphony SP-protocolblad*, R2, voor DNA\_Buffy\_Coat\_200\_V7 DSP voor QIASymphony DSP DNA Mini Kit, versie 1.

## Algemene informatie

De QIASymphony DSP DNA-kit is bedoeld voor gebruik in de in-vitrodiagnostiek.

Dit protocol is bedoeld voor de zuivering van totaal genomisch en mitochondriaal DNA uit verse of bevroren buffy coat met behulp van de QIASymphony SP en de QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

|                                   |                                                     |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------------|
| <b>Kit</b>                        | QIASymphony DSP DNA Mini Kit (catalogusnr. 937236)  |
| <b>Monstermateriaal</b>           | Buffy coat (ontsteld met EDTA, citraat of heparine) |
| <b>Naam protocol</b>              | DNA_BC_200_V7_DSP                                   |
| <b>Standaard assaycontroleset</b> | ACS_BC_200_V7_DSP                                   |
| <b>Bewerkbaar</b>                 | Elutievolume: 200 µl, 300 µl, 400 µl                |
| <b>Vereiste softwareversie</b>    | Versie 4.0 of hoger                                 |

## De lade 'Sample' (Monsterlade)

|                                 |                                                                                                                                                                        |
|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Monstertype</b>              | Buffy coat (ontsteld met EDTA, citraat of heparine)                                                                                                                    |
| <b>Monstervolume</b>            | Afhankelijk van het gebruikte type monsterbuis, raadpleeg <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> voor meer informatie. |
| <b>Primaire monsterbuizen</b>   | n.v.t.                                                                                                                                                                 |
| <b>Secondaire monsterbuizen</b> | Raadpleeg <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> voor meer informatie.                                                 |
| <b>Inzetten</b>                 | Afhankelijk van het gebruikte type monsterbuis, raadpleeg <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> voor meer informatie. |

n.v.t. = niet van toepassing.

## De lade 'Reagents and Consumables' (Reagentia- en verbruiksartikelenlade)

|                                  |                                                                   |
|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| <b>Positie A1 en/of A2</b>       | Reagenscartridge                                                  |
| <b>Positie B1</b>                | n.v.t.                                                            |
| <b>Tiprekhouder 1-17</b>         | Disposable filtertips, 200 µl of 1500 µl                          |
| <b>Verpakkingsdooshouder 1-4</b> | Verpakkingsdozen met monsterbereidingscartridges of 8 staafhulzen |

n.v.t. = niet van toepassing.

## De lade 'Waste' (Afvallade)

|                              |                            |
|------------------------------|----------------------------|
| Verpakkingsdooshouder 1-4    | Lege verpakkingsdozen      |
| Afvalzakhouder               | Afvalzak                   |
| Houder afvalvloeistoffenfles | Lege afvalvloeistoffenfles |

## De lade 'Eluate' (Eluaatlade)

|                                                                      |                                                                                                                        |
|----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Elutierek (het gebruik van slot 1, de koelpositie, wordt aangeraden) | Raadpleeg <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> voor meer informatie. |
|----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## Benodigde plastic artikelen

|                                     | Een batch,<br>24 monsters* | Twee batches,<br>48 monsters* | Drie batches,<br>72 monsters* | Vier batches,<br>96 monsters* |
|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Wegwerpbaar filtertips,<br>200 µl†  | 2                          | 2                             | 2                             | 2                             |
| Wegwerpbaar filtertips,<br>1500 µl† | 110                        | 212                           | 314                           | 416                           |
| Monsterbereidingscartridges§        | 18                         | 36                            | 54                            | 72                            |
| 8-staafhulzen¶                      | 3                          | 6                             | 9                             | 12                            |

\* Bij gebruik van minder dan 24 monsters per batch zijn minder wegwerpbaar filtertips per run nodig.

† Er zitten 32 filtertips in een filtertiprek.

‡ Het aantal benodigde filtertips is inclusief tips voor 1 voorraadscan per reagenscartridge.

§ Er zitten 28 monsterbereidingscartridges in een verpakkingsdoos.

¶ Er zitten twaalf 8-staafhulzen in een verpakkingsdoos.

Opmerking : De gegeven aantallen filtertips kunnen afwijken van de aantallen die op het aanraakscherm worden weergegeven. Dit is afhankelijk van de instellingen. Wij raden aan om het maximaal mogelijke aantal tips te plaatsen.

## Elutievolume

Het elutievolume wordt op het touchscreen geselecteerd. Afhankelijk van het monstertype en het DNA-gehalte, kan het uiteindelijke eluaatvolume tot 15 µl kleiner zijn dan het geselecteerde volume. Het elutievolume kan variëren. Het wordt daarom aangeraden het werkelijke elutievolume te controleren bij gebruik van een geautomatiseerd assay-setupsysteem dat het elutievolume niet verifieert voorafgaand aan de overdracht. Met lagere elutievolumes stijgt de uiteindelijke DNA-concentratie, maar daalt de opbrengst iets. Het gebruik van een elutievolume dat geschikt is voor de bedoelde vervolgtoepping wordt aangeraden.

---

## Bereiding van monstermateriaal

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (safety data sheets, SDS) die bij de leveranciers van de producten verkrijgbaar zijn.

### Wat u moet weten voor u begint

- QIASymphony magnetische deeltjes kunnen RNA zuiveren indien dit aanwezig is in het monster. Voeg RNase A toe aan het monster voordat de procedure wordt gestart om het RNA-gehalte in het monster te minimaliseren. De uiteindelijke RNase A-concentratie moet 2 mg/ml zijn.

## Buffy coat

Buffy coat is een fractie van volbloed dat is verrijkt met leukocyten. De effectiviteit van verrijking met leukocyten is afhankelijk van de procedure die wordt gebruikt om buffy coat voor te bereiden en op de nauwkeurigheid waarmee de buffy coat-laag wordt geëxtraheerd. Bereid buffy coat voor door volbloedmonsters met een standaard antistollingsmiddel (EDTA, citraat of heparine) 10 minuten te centrifugeren met 900–1100 x g op kamertemperatuur (15–25 °C). Na centrifugatie zijn er drie verschillende fracties te onderscheiden: de bovenste heldere laag is plasma; de middelste laag is buffy coat en bevat geconcentreerde leukocyten; de onderste laag bevat geconcentreerde erythrocyten. Er kan per 10 ml gecentrifugeerd volbloed ongeveer een fractie van 1 ml die leukocyten bevat worden geoogst, wat gemiddeld een verrijking van 5–6x geeft. Bijvoorbeeld: 10 ml volbloed met een hoeveelheid witte bloedcellen van  $6 \times 10^6$  cellen/ml levert 1 ml buffy coat op. Uitgaand van een witte bloedcelverrijking van 5x, geeft dit  $3 \times 10^7$  cellen/ml. In een protocol dat 200 µl buffy coat gebruikt, worden daarom  $6 \times 10^6$  cellen gebruikt.

Bereid buffy coatmonsters met een verrijking van >10x niet voor om overbelasting van de procedure voor DNA-zuivering te voorkomen. Verdun de monsters, indien de buffy coatmonsters een verrijking van >10x hebben, tot een verrijking van 10x of minder met PBS of gebruik minder beginmateriaal tijdens de DNA-zuiveringsprocedure.

Buffy coatmonsters mogen onmiddellijk worden gebruikt of worden opgeslagen bij –20 °C of –70°C voor DNA-zuivering op een later moment. Bevroren monsters moeten snel worden ontdooid in een waterbad van 37 °C onder zacht schudden om voor een goede menging te zorgen. Laat de monsters vervolgens op kamertemperatuur komen (15–25 °C) voordat de procedure wordt gestart. Om betrouwbare overbrenging van het monster te verzekeren, dient u schuimvorming in de monsterbuisen te vermijden. Probeer bloedstolsels in de monsters te voorkomen en breng de monsters indien nodig zonder bloedstolsels over naar een nieuwe buis.

## Revisiegeschiedenis

| Document Revisiegeschiedenis |                                                |
|------------------------------|------------------------------------------------|
| R2 12/2017                   | Wijziging voor QIAsymphony-software versie 5.0 |

Zie voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules de handleiding of gebruikershandleiding van de desbetreffende QIAGEN®-kit. Handleidingen en gebruikershandleidingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) of kunnen worden aangevraagd bij de technische dienst van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

Handelsmerken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (QIAGEN Group). Gedeponeerde namen, handelsmerken, etc. die in dit document worden gebruikt, ook al zijn deze niet specifiek als zodanig aangeduid, mogen niet worden beschouwd als niet wettelijk beschermd. 12/2017 HB-0977-S05-002 © 2017 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

---

Bestellen [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Technische ondersteuning [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Website [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)