

December 2017

QIASymphony[®] SP-protokolark

DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP-protokol

Dette dokument er *QIASymphony SP-protokolarket* for DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP, R3, til QIASymphony DSP DNA Mini Kit, version 1.

Generelle oplysninger

QIAsymphony DSP DNA-kit er beregnet til in vitro-diagnostisk brug.

Denne protokol er til oprensning af total genomisk og mitokondrisk DNA fra frisk eller frossen buffy coat ved hjælp af QIAsymphony SP og QIAsymphony DSP DNA Midi Kit.

| | |
|----------------------------------|--|
| Kit | QIAsymphony DSP DNA Midi Kit (kat.nr. 937255) |
| Prøvemateriale | Buffy coat (EDTA eller citrat, eller heparin-antikoaguleret) |
| Protokolnavn | DNA_BC_400_V6_DSP |
| StandardanalysekontROLSÆT | ACS_BC_400_V6_DSP |
| Redigerbar | Elueringsvolumen: 200 µl, 400 µl |
| Påkrævet softwareversion | Version 4.0 eller højere |

Skuffen "Sample" (prøve)

| | |
|----------------------------|--|
| Prøvetype | Buffy coat (EDTA eller citrat, eller heparin-antikoaguleret) |
| Prøvevolumen | Afhænger af den anvendte prøveglastype. Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks for at få flere oplysninger. |
| Primære prøveglas | i/r |
| Sekundære prøveglas | Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks for at få flere oplysninger. |
| Indsætter | Afhænger af den anvendte prøveglastype. Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks for at få flere oplysninger. |

i/r = ikke relevant.

Skuffen "Reagents and Consumables" (reagenser og forbrugsartikler)

| | |
|--------------------------------|---|
| Position A1 og/eller A2 | Reagensbeholder |
| Position B1 | i/r |
| Spidsrackholder 1-17 | Engangsfilterspidser, 200 µl eller 1500 µl |
| Enhedsboksholder 1-4 | Enhedsbokse med prøveklargøringsbeholdere eller 8-stavs dæksler |

i/r = ikke relevant.

Skuffen "Waste" (affald)

| | |
|---------------------------------|--------------------------------|
| Enhedsboksholder 1-4 | Tomme enhedsbokse |
| Affaldsposeholder | Affaldspose |
| Væskeaffaldsflaskeholder | Tom flaske til flydende affald |

Skuffen "Eluate" (eluat)

Elueringsrack (vi anbefaler at anvende åbning 1, afkølingsposition)

Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks for at få flere oplysninger.

Påkrævede plastikprodukter

| | Ét batch, 24 prøver* | To batches, 48 prøver* | Tre batches, 72 prøver* | Fire batches, 96 prøver* |
|--|----------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|
| Engangsfilterspidser, 200 µl ^{†‡} | 4 | 4 | 4 | 8 |
| Engangsfilterspidser, 1500 µl [‡] | 110 | 212 | 314 | 424 |
| Prøveklargøringsbeholdere [§] | 18 | 36 | 54 | 72 |
| 8-stavs dæksler [¶] | 3 | 6 | 9 | 12 |

* Anvendelse af mindre end 24 prøver pr. batch reducerer antallet af engangsfilterspidser påkrævet pr. kørsel.

[†] Der er 32 filterspidser/spidsrack.

[‡] Antal nødvendige filterspidser indeholder filterspidser til 1 indholdsscanning pr. reagensbeholder.

[§] Der er 28 prøveklargøringsbeholdere/enhedsboks.

[¶] Der er tolv 8-stavs dæksler/enhedsboks.

Bemærk : Antallet af angivne filterspidser kan afvige fra det antal, der vises på berøringsskærmen, afhængigt af indstillinger. Vi anbefaler at isætte det størst mulige antal spidser.

Elueringsvolumen

Elueringsvolumenen vælges på berøringsskærmen. Afhængig af prøvetypen og DNA-indholdet kan den endelige eluatvolumen variere med op til 15 µl mindre end den valgte mængde. Da eluatvolumenen kan variere anbefaler vi at tjekke den faktiske eluatvolumen, når der anvendes et automatiseret analyseopsætningsystem, som ikke verificerer eluatvolumenen før overførslen. Eluering i lavere mængder øger den endelige DNA-koncentration, men reducerer udbyttet en smule. Vi anbefaler at anvende en elueringsvolumen, der er passende for den tilsigtede senere anvendelse.

Klargøring af prøvemateriale

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der findes flere oplysninger i de tilhørende sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er), som kan fås hos produktets leverandør.

Vigtig anvisning før start

- De magnetiske partikler i QIA Symphony kan samtidig oprense RNA, hvis det er til stede i prøven. For at mindske RNA-indholdet i prøven, skal man tilsætte RNase A til prøven, inden man starter proceduren. Den endelige RNase A-koncentration skal være 2 mg/ml.

Buffy coat

Buffy coat er en leukocyt-beriget fraktion af helblod. Effektiviteten fra leukocytberigelsen afhænger af proceduren, som anvendes til at klargøre buffy coat og af den nøjagtighed, hvormed buffy coat-laget ekstraheres. Klargør buffy coat ved at centrifugere helblodsprøver, der indeholder en standard antikoagulant (EDTA, citrat eller heparin) ved $900-1100 \times g$ i 10 minutter ved rumtemperatur (15-25°C). Efter centrifugering vil der kunne skelnes mellem 3 forskellige fraktioner: Det øverste klare lag er plasma, det mellemliggende lag er buffy coat, der indeholder koncentrerede leukocytter, og det nederste lag indeholder koncentrerede erythrocytter. Der kan ca. høstes 1 ml leukocytholdig fraktion fra 10 ml centrifugeret helblod, som i gennemsnit giver 5-6x berigelse. For eksempel vil 10 ml helblod med et hvid blodlegemetælling på 6×10^6 celler/ml give 1 ml buffy coat. I det der antages en 5x berigelse med hvide blodlegemer vil dette give et resultat på 3×10^7 celler/ml. Således vil en protokol, hvor der anvendes 400 µl buffy coat, kræve en anvendelse af $1,2 \times 10^7$ celler.

For at undgå overbelastning af DNA-oprensningproceduren, bør man ikke klargøre buffy coat-prøver med >10x berigelse. Hvis buffy coat-prøverne er med >10x berigelse, skal prøverne fortyndes til 10x berigelse eller mindre med PBS, eller man skal anvende mindre startmateriale i DNA-oprensningproceduren.

Buffy coat-prøver kan bruges omgående eller opbevares ved -20°C eller -70°C til oprensning af DNA på et senere tidspunkt. Frosne prøver skal optøs hurtigt i vandbad på 37 °C under let omrøring for at sikre, at de blandes grundigt, og dernæst skal man lade dem opnå rumtemperatur (15-25 °C), inden man påbegynder proceduren. For at sikre pålidelig prøveoverførsel skal man undgå, at der opstår skum i prøverørene. Undgå så vidt muligt blodkoageler og, hvis det er nødvendigt, overfør prøven uden koageler til et nyt prøverør.

Revisionshistorik

| Revisionshistorik for dokumentet | |
|----------------------------------|--|
| R3 12/2017 | Opdatering til QIASymphony softwareversion 5.0 |

Vedrørende opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle håndbog eller brugervejledning til QIAGEN®-kittet. QIAGEN kit-håndbøger og -brugermanualer kan fås via www.qiagen.com eller kan rekvireres hos QIAGENS tekniske service eller den lokale distributør.

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Registrerede navne, varemærker osv., der bruges i dette dokument, er beskyttet af den relevante lovgivning, også når disse ikke er specifikt markeret som sådan.
12/2017 HB-0977-S06-003 © 2017 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

Bestilling www.qiagen.com/shop | Teknisk support support.qiagen.com | Websted www.qiagen.com