

Augusti 2015

Bruksanvisning till QIASymphony[®] DSP DNA (handbok)



192 (katalognr 937236)



96 (katalognr 937255)

Version 1



För in vitro-diagnostisk användning

QIASymphony DSP DNA Mini Kit

QIASymphony DSP DNA Midi Kit



937236, 937255



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden TYSKLAND



1069185SV



Innehåll

Avsedd användning	3
Sammanfattning och förklaring	3
Principer för proceduren	4
Material som medföljer	6
Kitinnehåll	6
Material som behövs men inte medföljer	6
Varningar och försiktighet	7
Förvaring och hantering av reagens	11
Kitkomponenter	12
Provinsamling och -beredning	12
Procedur	13
Automatiserad rening på QIAasymphony SP	13
Protokoll: Rening av DNA	20
Kvalitetskontroll	23
Begränsningar	23
Symboler	24
Felsökningshandbok	26
Bilaga: Kvantifiering och bestämning av renhet av DNA	29
Kvantifiering av DNA	29
Renhet av DNA	30
Beställningsinformation	31

Avsedd användning

I QIASymphony® DSP DNA Mini Kit och QIASymphony DSP DNA Midi Kit används magnetisk partikelteknik för automatiserad isolering och rening av DNA från biologiska prover.

Produkterna är avsedda att användas av yrkesanvändare, såsom tekniker och läkare som är utbildade i molekylärbiologiska metoder.

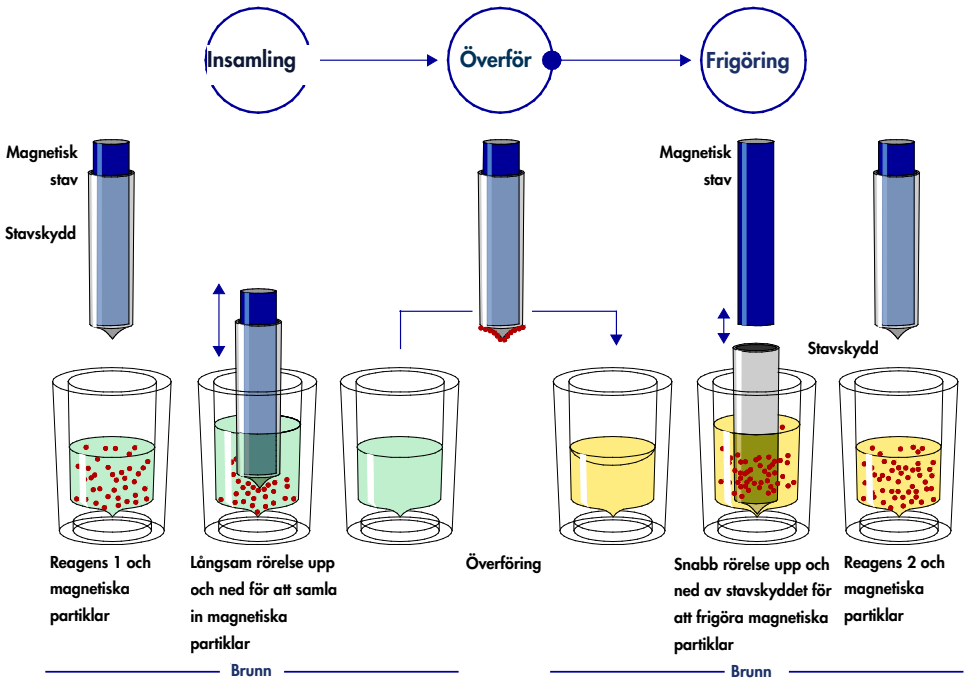
QIASymphony DSP DNA-systemet är avsett för in vitro-diagnostisk användning.

Sammanfattning och förklaring

QIASymphony DSP DNA-kiten är avsedda att endast användas i kombination med QIASymphony SP. QIASymphony DSP DNA-kiten består av reagenser för helautomatiserad och samtidig rening av totalt DNA från humant helblod, buffy coat, vävnader och FFPE-vävnader, samt virus-DNA från humant helblod. Prestandaegenskaperna för varje virusart, vävnad eller FFPE-vävnad har emellertid inte fastställts och måste valideras av användaren. Magnetisk partikelteknik möjliggör rening av högkvalitativa nukleinsyror som är fria från proteiner, nukleaser och andra orenheter. Renade nukleinsyror är färdiga för direkt användning i nedströmstillämpningar, t.ex. förstärkning eller andra enzymatiska reaktioner. QIASymphony SP utför alla steg i reningsproceduren. I en enda körning behandlas upp till 96 prover i satser om 24. Manuell provförbehandling krävs för protokoll med vävnader och FFPE-vävnader.

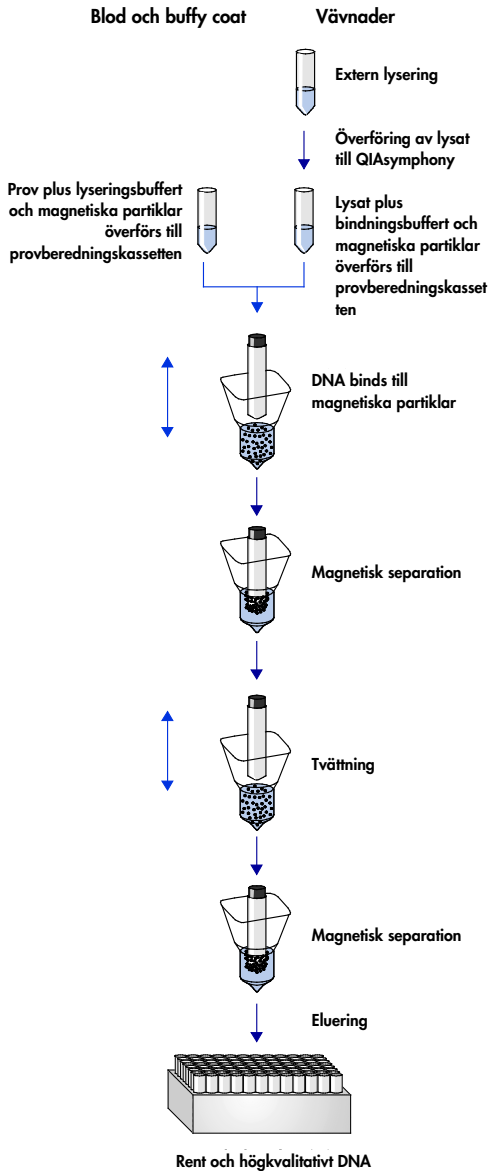
Principer för proceduren

QIASymphony-tekniken kombinerar hastigheten och effektiviteten hos kiselbaserad nukleinsyrarening med den praktiska hanteringen av magnetiska partiklar (figur 1, nedan). Rensningsproceduren är utformad för att säkerställa säker och reproducerbar hantering av potentiellt infektiösa prover och består av 4 steg: lysering, bindning, tvättning och eluering (se flödesdiagram, sidan 5). Användaren kan välja mellan olika elueringsvolymmer.



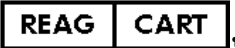

Figur 1. Schematisk bild av QIASymphony SP-principen. QIASymphony SP behandlar ett prov som innehåller magnetiska partiklar enligt följande: En magnetisk stav som skyddas av ett stavskydd förs ned i en brunn som innehåller provet och drar till sig de magnetiska partiklarna. Skyddet på den magnetiska staven placeras över en annan brunn och de magnetiska partiklarna frigörs. Dessa steg upprepas flera gånger under provbehandlingen. QIASymphony SP använder ett magnethuvud som består av en uppsättning med 24 magnetiska stavar och kan därför behandla upp till 24 prover samtidigt.

QIAasymphony DSP DNA-procedur



Material som medföljer

Kitinnehåll

QIA Symphony DSP DNA Kit		Mini	Midi	
Katalognummer		937236	937255	
Antal provpreparat		192	96*	
RC	Reagent Cartridge (Reagenskasset)†		2	2
ER	Enzyme Rack (Enzymställ)	2	2	
PL	Piercing Lid (Instickslock)	2	2	
ATE	Buffer ATE (ATE-buffert) (20 ml)‡		20 ml	20 ml
RSS	Reuse Seal Set (Tätningssats för återanvändning)§	2	2	
	Instructions for Use (Handbook) (Bruksanvisning (Handbok))	1	1	

* För 96 x 1 000 µl preparat eller 144 x 400 µl preparat.

† Innehåller guanidinsalter. Inte kompatibel med desinfektionsmedel med blekmedel. Säkerhetsinformation finns på sidan 7.

‡ Innehåller natriumazid som konserveringsmedel.

§ En tätningssats för återanvändning innehåller 8 tätningssremor för återanvändning.

¶ Se sidan 24 för symbollista med definitioner.

Material som behövs men inte medföljer

Använd alltid lämplig laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Se lämpliga säkerhetsdatablad från produktleverantören för materialsäkerhet.

- QIASymphony SP
- Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (Provberedningskassetter, 8-brunnars) (katalognr 997002)
- 8-Rod Covers (8-stavsskydd) (katalognr 997004)
- Filter-Tips (Filterspetsar), 200 µl och 1 500 µl (katalognr 990332 och 997024)
- Provrör (t.ex. 2 ml provrör med skruvlock, Sarstedt® katalognr 72.693, eller utan lock, Sarstedt katalognr 72.608 eller Sarstedt katalognr 72.694). Kompatibla primära och sekundära format för rör finns på **www.qiagen.com/goto/dspdnakits**.
- Elueringsrör eller -plattor. Kompatibla format för elueringsrör och -plattor finns på **www.qiagen.com/goto/dspdnakits**.
- Fosfatbuffrad koksaltlösning (PBS, kan krävas för att späda prover)
- Vortexblandare
- Valfritt: DNase-fritt RNase A (för att minimera RNA-innehåll)
- Ytterligare material som behövs för tillämpningar för vävnad och blod med virus anges i protokollblad på **www.qiagen.com/goto/dspdnakits**.

Varningar och försiktighet

För in vitro-diagnostisk användning.

Läs alla anvisningar noga innan du använder kitet.

Använd alltid lämplig laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Ytterligare information finns i aktuella säkerhetsdatablad för materialsäkerhet. Dessa är tillgängliga online i praktiskt och kompakt PDF-format på **www.qiagen.com/safety** där du kan hitta, granska och skriva ut datablad för alla kit och kitkomponenter från QIAGEN®.



FÖRSIKTIGHET: Tillsätt ALDRIG blekmedel eller sura lösningar direkt till provavfallet.

Buffertar i reagenskassetterna (RC) innehåller guanidinsalter som kan bilda starkt reaktiva föreningar när de kombineras med blekmedel. Om vätska med dessa buffertar spills ut ska rengöring utföras med lämpliga laboratorierengöringsmedel och vatten. Om den spillda vätskan innehåller potentiellt smittsamma ämnen ska ytorna först rengöras med laboratorierengöringsmedel och vatten och därefter med 1 % (v/v) natriumhypoklorit.

Följande risk- och skyddsfraser (R- och S-fraser) gäller för komponenterna i QIASymphony DSP DNA-kiten.

QSB1



Innehåller: Brij 58; guanidintiocyanat; isopropanol. Fara! Kan vara skadligt vid förtäring eller hudkontakt. Orsakar allvarliga fräskador på hud och ögon. Kan göra att man blir dåsig eller omtöcknad. Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. Mycket brandfarlig vätska och ånga. Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra. Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten/duscha. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare. Får inte utsättas för värme/gnistor/öppen låga/heta ytor. Rökning förbjuden. Förvaras på väl ventilerad plats. Förpackningen förvaras väl tillsluten. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.

MBS

Varning! Orsakar lätt hudirritation. Om hudirritation uppstår: Sök läkarhjälp.

Proteinas K



Innehåller: Proteinas K. Fara! Orsakar lindrig hudirritation. Kan orsaka allergi- eller astmasymptom eller andningssvårigheter vid inandning. Inandas inte damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. Vid besvär i luftvägarna: Kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare. VID INANDNING: Vid andningsbesvär, flytta personen till frisk luft och se till att han eller hon vilar i en ställning som underlättar andningen. Använd andningsskydd.

QSL1



Innehåller: guanidinhydroklorid; maleinsyra. Varning! Kan vara skadligt vid förtäring eller inandning. Irriterar huden. Orsakar allvarlig ögonirritation. Kan orsaka allergisk hudreaktion. Vid bestående ögonirritation: Sök läkarhjälp. Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.

QSW1



Innehåller: etanol; guanidinhydroklorid; litiumklorid. Varning! Kan vara skadligt vid förtäring. Irriterar huden. Orsakar allvarlig ögonirritation. Brandfarlig vätska och ånga. Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. Vid bestående ögonirritation: Sök läkarhjälp. Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. Får inte utsättas för värme/gnistor/öppen låga/heta ytor. Rökning förbjuden. Förvaras på väl ventilerad plats. Förvaras svalt. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.

QSW2



Innehåller: etanol. Fara! Orsakar allvarlig ögonirritation. Mycket brandfarlig vätska och ånga. Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. Vid bestående ögonirritation: Sök läkarhjälp. Får inte utsättas för värme/gnistor/öppen låga/heta ytor. Rökning förbjuden. Förvaras på väl ventilerad plats. Förvaras svalt. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.

Förvaring och hantering av reagens

QIASymphony DSP DNA-kiten ska förvaras upprätta i rumstemperatur (15–25 °C). De magnetiska partiklarna i reagenskassetterna (RC) förblir aktiva vid förvaring i denna temperatur. Vid korrekt förvaring är kitet hållbart fram till utgångsdatumet på kitförpackningen.

Obs! Etiketten på QIASymphony DSP DNA-kitförpackningen anger utgångsdatum för kitet. Resultatfilen dokumenterar endast utgångsdatum för reagenskassetten (RC).

Kitkomponenter

QIASymphony DSP DNA-kiten innehåller bruksfärdig proteinas K-lösning som kan förvaras i rumstemperatur.

Förvara inte reagenskassetterna (RC) i temperaturer under 15 °C.

Delvis använda reagenskassetter (RC) kan förvaras i högst 4 veckor, vilket möjliggör kostnadseffektiv återanvändning av reagenser och flexiblere provbearbetning. Om en reagenskasset (RC) används delvis ska locket sättas tillbaka på tråget med de magnetiska partiklarna och reagenskassetten (RC) ska förseglas med de medföljande tätningstremsorna för återanvändning omedelbart efter det att en protokollkörning har avslutats, för att undvika avdunstning.

För att undvika avdunstning får reagenskassetten (RC) vara öppen under högst 15 timmar (inklusive körningstider) vid en maximal omgivande temperatur på 30 °C.

Körning av satser med lågt provantal (<24) ökar både tiden som reagenskassetten (RC) är öppen och de nödvändiga buffertvolymerna, vilket möjligtvis kan minska det totala antalet möjliga provberedningar per kasset.

Undvik att utsätta reagenskassetterna (RC) för UV-ljus (t.ex. vid sanering) eftersom denna exponering kan påskynda åldrandet hos reagenskassetterna (RC) och buffertarna.

Provinsamling och -beredning

Undvik skumbildning i eller på proven. Proverna kan behöva förbehandlas, beroende på startmaterialet.

Proverna måste uppnå rumstemperatur (15–25 °C) innan körningen startas.

Mer information om den automatiserade proceduren (inklusive information om provrör som kan användas med specifika protokoll) och specifika provförbehandlingar finns i aktuellt protokollblad på www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Procedur

Automatiserad rening på QIASymphony SP

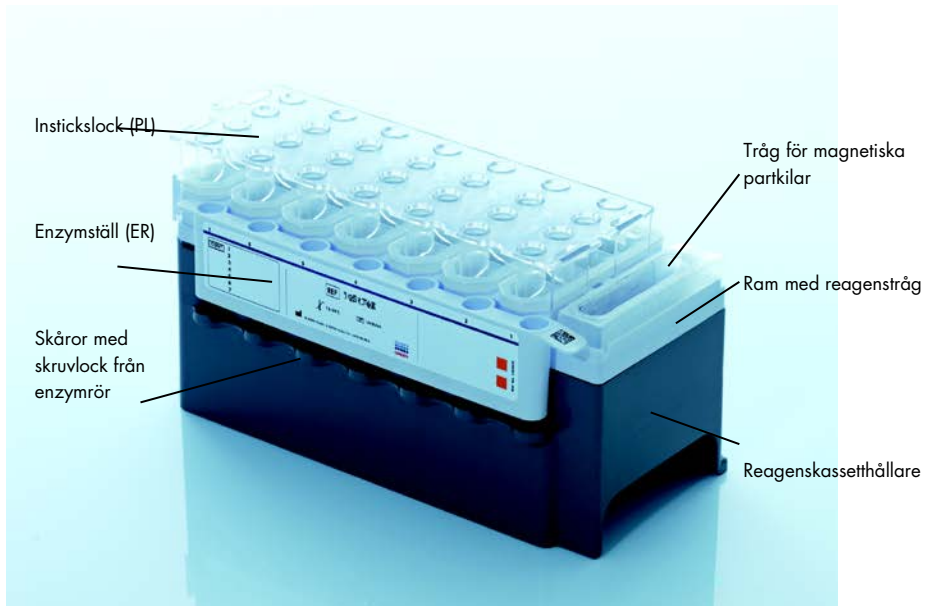
QIASymphony SP gör automatiserad provberedning enkel och praktisk. Prover, reagenser och förbrukningsvaror samt eluat separeras i olika lådor. Du laddar helt enkelt prover, reagenser som tillhandahålls i särskilda kassetter och förinstallerade förbrukningsvaror i lämplig låda före en körning, Starta protokollet och avlägsna renat DNA från lådan "Eluate" (Eluat) efter bearbetningen. Driftsanvisningar finns i de bruksanvisningar som medföljer instrumentet.

Obs! Valfritt underhåll är inte obligatoriskt för instrumentfunktionen, men det rekommenderas starkt för att minska risken för kontaminering.

Utbudet av tillgängliga protokoll utökas kontinuerligt och ytterligare QIAGEN-protokoll kan hämtas kostnadsfritt från www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Ladda reagenskassetter (RC) i lådan "Reagents and Consumables" (Reagenser och förbrukningsvaror).

Reagenser för rening av DNA finns inneslutna i en innovativ reagenskasset (RC) (figur 2, sidan 14). Varje tråg i reagenskassetten (RC) innehåller en speciell reagens, till exempel magnetiska partiklar, lyseringsbuffert, tvättbuffert eller elueringsbuffert. Delvis använda reagenskassetter (RC) kan förseglas på nytt med tätningsremсор (RSS) och senare återanvändas, vilket förhindrar uppkomsten av avfall på grund av överblivna reagenser mot slutet av reningsproceduren.



Figur 2. QIASymphony reagenskasset (RC). Reagenskassetten (RC) innehåller alla reagenser som behövs för protokollkörningen.

Innan du startar förfarandet, måste du kontrollera att magnetpartiklarna är helt återsuspenderade. Ta bort magnetpartikeltråget från reagenskassettramen, vortexblanda det kraftfullt i minst 3 minuter och sätt tillbaka det i reagenskassettramen före den första användningen. Placera reagenskassetten (RC) i reagenskassetthållaren. Placera enzymstället (ER) i reagenskassetthållaren. Innan du använder reagenskassetten (RC) den första gången ska du placera instickslocket (PL) på reagenskassetten (RC) (figur 2, ovan).

Obs! Instickslocket (PL) är vasst. Var försiktig när du placerar det i reagenskassetten (RC). Kontrollera att du placerar instickslocket (PL) i rätt riktning på reagenshållaren (RC).

När du har tagit bort locket till magnetpartikelträget och öppnat enzymställrören (skruvlock kan förvaras i skåror avsedda för detta ändamål, se figur 2, sidan 14) laddar du reagenskassetten (RC) i lådan "Reagents and Consumables".

Delvis använda reagenskassetter (RC) kan förvaras tills de ska användas igen, se "Förvaring och hantering av reagens" på sidan 11.

Ladda plastartiklar i lådan "Reagents and Consumables".

Provberedningskassetter, 8-stavsskydd (båda förinställda i enhetsaskar) och filterspetsar för engångsbruk (200 µl-spetsar i blå ställ, 1 500 µl-spetsar i grå ställ) laddas i lådan "Reagents and Consumables".

Obs! Säkerställ att du har tagit bort skydden på enhetsaskarna innan du laddar enhetsaskarna i lådan "Reagents and Consumables".

Obs! Spetsar har filter, vilket hjälper till att förhindra korskontaminering.

Spetsställskåror i QIASymphony SP-arbetsbordet kan fyllas med valfri typ av spetsställ. QIASymphony SP identifierar typen av spetsar som laddats under inventarieskanningen.

Obs! Fyll inte spetsställ eller enhetsaskar för provpreparerade kassetter eller 8-stavsskydd på nytt innan du startar ännu en protokollkörning. QIASymphony SP kan använda spetsställ och enhetsaskar som är delvis använda.

Information om vilka förbrukningsvaror som behövs finns i aktuellt protokollblad på www.qiagen.com/goto/dspdnakits. Information om beställning av plastartiklar finns på sidan 31.

Ladda lådan "Waste" (Avfall)

Provberedningskassetter och 8-stavsskydd som används under en körning ställs på nytt i tomma enhetsaskar i lådan "Waste". Kontrollera att lådan "Waste" innehåller tillräckligt med tomma enhetsaskar för plastavfall som alstrats under protokollkörningen.

Obs! Säkerställ att du har tagit bort skydden på enhetsaskarna innan du laddar askarna i lådan "Waste". Om du använder askar med 8-stavsskydd för att samla in förbrukade provberedningskassetter och 8-stavsskydd måste du kontrollera att du har tagit bort askens avståndsbricka.

En påse för förbrukade filterspetsar måste fästas på framsidan av lådan "Waste".

Obs! Systemet kontrollerar inte om det finns en avfallspåse. Kontrollera att spetsavfallspåsen har fästs ordentligt innan du startar protokollkörningen. Mer information finns i bruksanvisningarna som medföljer instrumentet. Töm spetspåsen när du har kört maximalt 96 prover, så att det inte anhopas för många spetsar.

En avfallsbehållare samlar in flytande avfall som alstrats under reningsproceduren. Lådan "Waste" kan endast stängas om avfallsbehållaren finns på plats. Kassera det flytande avfallet enligt lokala säkerhets- och miljöregler. Autoklavera inte den fyllda avfallsflaskan. Töm avfallsflaskan när du har bearbetat maximalt 96 prover.

Ladda lådan "Eluate" (eluat)

Ladda det erforderliga elueringsstället i lådan "Eluate". Eftersom långtidsförvaring av eluat i lådan "Eluate" kan leda till avdunstning av eluat måste avkylningspositionen användas. Använd endast "Elution slot 1" (Elueringsskåra 1) med motsvarande avkylningsadapter.

Inventarieskanning

Innan du startar en körning kontrollerar instrumentet att tillräckligt med förbrukningsvaror för satsen/satserna i kön har laddats i motsvarande lådor.

Förberedelse av provmaterial

QIASymphony DSP DNA-kiten är utformade för automatiserad rening av totalt DNA från humant helblod, buffy coat, vävnader och formalinfixerade, paraffinbäddade (FFPE) vävnader, liksom virus-DNA från humant helblod (tabell 1, sidan 18).

Undvik skumbildning i eller på proven. Proverna kan behöva förbehandlas, beroende på startmaterialet. Prover måste uppnå rumstemperatur (15–25 °C) innan du startar körningen. Manuell provförbehandling krävs för protokoll med vävnader och FFPE-vävnader.

Mer information om den automatiserade proceduren (inklusive information om provrör som kan användas med specifika protokoll) och specifika provförbehandlingar finns i aktuellt protokollblad på www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Utbyte av renat DNA

DNA-utbyten beror på provtyp, antal kärnförsedda celler i provet, startmaterialets kvalitet och det protokoll som används för isolering av DNA. Eluering i små volymer ökar den slutliga DNA-koncentrationen i eluatet men minskar det totala DNA-utbytet något. Vi rekommenderar att du använder en elueringvolym som är lämplig för den avsedda nedströmstillämpningen. QIASymphony DSP DNA-kiten renar RNA och DNA samtidigt om båda förekommer i provet. För att minimera RNA-innehållet i provet tillsätter du RNase A till provet i det steg som anges i respektive förbehandlingsprotokoll. Mer information finns i protokollbladen på www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Förvara DNA

Renat DNA kan förvaras i 2–8 °C i upp till 5 dagar. DNA ska långtidsförvaras i –20 °C eller –80 °C.

Tabell 1. Protokollöversikt

Prov	Provvoly (µl)	Elueringsvoly (µl)	Kit	QIASymphony SP-protokoll
Helblod	200	50, 100, 200	Mini	Blood 200 DSP
	400	100, 200, 400	Midi	Blood 400 DSP
	1 000	200, 400, 500	Midi	Blood 1000 DSP
Buffy coat	200	200, 300, 400	Mini	DNA Buffy Coat 200 DSP
	400	200, 400	Midi	DNA Buffy Coat 400 DSP
Virusblod	200	60, 85, 110, 165	Mini	VirusBlood200 DSP
Vävnad	200	50, 100, 200,	Mini	Tissue LC 200 DSP
	200	400	Mini	Tissue HC 200 DSP
		100, 200, 400		

Viktigt att tänka på före start

- Se till att du känner till hur man använder QIASymphony SP. Driftsanvisningar finns i de bruksanvisningar som medföljer instrumentet.
- Valfritt underhåll är inte obligatoriskt för instrumentfunktionen, men det rekommenderas starkt för att minska risken för kontaminering.
- Innan du påbörjar proceduren läser du avsnittet "Principer för proceduren" som börjar på sidan 4.
- Säkerställ att du är bekant med det protokollblad som motsvarar den procedur som du vill använda (www.qiagen.com/goto/dspdnakits).
- Innan du använder reagenskassetten (RC) för första gången kontrollerar du att buffertarna QSL1 och QSB1 inte innehåller någon fällning. Vid behov avlägsnar du de tråg som innehåller buffertarna QSL1 och QSB1 från reagenskassetten (RC), inkuberar dem i 30 minuter vid 37 °C och skakar om då och då för att lösa upp fällningen. Sätt tillbaka trågen på rätt plats. Om du redan har punkterat reagenskassetten (RC) kontrollerar du att trågen är förseglade med tätningssremor för återanvändning,

inkuberar hela reagenskassetten (RC) i 30 minuter vid 37 °C i vattenbad och skakar om den då och då.*

- Försök att undvika kraftiga omskakningar av reagenskassetten (RC) eftersom det då kan bildas skum, vilket kan göra det svårt att fastställa vätskenivån.

Åtgärder som ska utföras före start

- Innan du startar proceduren ska du säkerställa att de magnetiska partiklarna är helt återsuspenderade. Vortexblanda tråget som innehåller magnetpartiklarna kraftfullt i minst 3 minuter före första användningen.
- Kontrollera att du har placerat instickslocket på reagenskassetten och att du har tagit bort locket på tråget med magnetiska partiklar. Om du använder en reagenskasset som är delvis använd ska du kontrollera att tätningsemsorna för återanvändning har avlägsnats.
- Se till att öppna enzyrörerna.
- Om proverna är streckkodade ska du placera proven i rörhållaren så att streckkoderna pekar mot streckkodsläsaren på vänster sida av QIASymphony SP.
- Information om vilka provrör som är kompatibla med ett visst protokoll finns i motsvarande laboratorieartikellista (finns på www.qiagen.com/goto/dspdnakits).
- Information om minsta provolymer för prover i primära och sekundära provrör för ett visst protokoll finns i motsvarande laboratorieartikellista (finns på www.qiagen.com/goto/dspdnakits). Denna information anger även vilka provrör som kan användas för olika protokoll.

* Säkerställ att du har kontrollerat, underhållit och kalibrerat instrumenten regelbundet enligt tillverkarens anvisningar.

Protokoll: Rening av DNA

Nedan följer ett allmänt protokoll för användning av QIASymphony DSP DNA-kit. Detaljerad information för varje protokoll, inklusive volymer och rör, finns i protokollblad som kan hämtas på www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

1. Stäng alla lådor och huven.
2. Slå PÅ QIASymphony SP och vänta tills skärmen "**Sample Preparation**" (Provberedning) visas och initieringen har slutförts.

Strömbrytaren sitter nedtill i det vänstra hörnet på QIASymphony SP.

3. Logga in på instrumentet.
4. Säkerställ att lådan "Waste" har preparerats korrekt och skanna inventarierna i lådan "Waste", inklusive spetsrännan och flytande avfall. Byt spetsavfallspåse vid behov.
5. Ladda det erforderliga elueringsstället i lådan "Eluate".

Ladda inte en platta med 96 brunnar på "Elution slot 4".

"Elution slot 1" med motsvarande avkylningsadapter måste användas.

Vid användning av en platta med 96 brunnar ska du se till att plattan är korrekt inriktad, eftersom felaktig placering kan orsaka sammanblandning av prov i nedströmsanalys.

Vid användning av ställ för Elution Microtubes CL ska du avlägsna botten genom att vrida stället tills botten lossnar.

6. Ladda nödvändigt antal reagenskassetter (RC) och förbrukningsvaror i lådan "Reagents and Consumables".
7. Utför en inventarieskanning av lådan "Reagents and Consumables".
8. Placera proverna i respektive provhållare och ladda dem i lådan "Sample" (Prov).

VIKTIGT: Placera proven i lämplig rörbärare, och ladda dem i lådan "Sample".

Mer information om beredning av blandningen och användning av en intern kontroll finns i det aktuella protokollbladet (finns på www.qiagen.com/goto/dspdnakits).

9. Via pekskärmen matar du in nödvändig information för varje provsats som ska bearbetas.

Ange följande information:

Provinformation (beroende på de provställ som används)

Det protokoll som ska köras (analyskontrolluppsättning)

Elueringsvolym och utmatningsposition

För VirusBlood200-tillämpningar: rör innehållande intern(a) kontroll(er)

När du har matat in information om satsen ändras statusen från "**LOADED**" (LADDAD) till "**QUEUED**" (I KÖ). Så snart en sats är i kö visas knappen "**Run**" (Kör).

10. Tryck på knappen "**Run**" för att starta reningsproceduren.

Alla bearbetningssteg är helautomatiserade. Mot slutet av protokollkörningen ändras satsstatusen från "**RUNNING**" (KÖR) till "**COMPLETED**" (KLAR).

11. Ta ut elueringsstället som innehåller de renade nukleinsyrorna från lådan "Eluate".

12. DNA:t är färdigt att använda eller kan förvaras i 2–8 °C, –20 °C eller –80 °C.

Vi rekommenderar att du tar bort eluatplattan från lådan "Eluate" omedelbart efter att körningen har slutförts. Beroende på temperatur och fuktighet kan elueringsplattor som lämnas kvar i QIASymphony SP efter det att körningen har slutförts kondensera eller avdunsta.

I allmänhet överförs inte de magnetiska partiklarna till eluaten. Om en sådan överföring inträffar så påverkas endast få nedströmstillämpningar av magnetiska partiklar i eluat.

Om magnetiska partiklar måste avlägsnas innan du ska utföra nedströmstillämpningar ska rör eller plattor med eluat först placeras i en lämplig magnet och eluaten ska överföras till ett rent provrör (se bilaga, sidan 29).

Resultatfiler framställs för varje elueringsplatta.

13. Om en reagenskasset (RC) endast har använts delvis ska du försegla den med medföljande tätningsremсор för återanvändning och stänga rören som innehåller proteinas K med skruvlock direkt efter slutförd protokollkörning för att undvika avdunstning.

Obs! Det finns mer information om förvaring av delvis använda reagenskassetter (RC) i "Förvaring och hantering av reagens", sidan 11.

14. Kassera använda provrör och avfall enligt lokala säkerhetsregler.

Säkerhetsinformation finns på sidan 7.

15. Rengör QIASymphony SP.

Följ underhållsanvisningarna i användarhandböckerna som medföljer instrumentet.

Rengör spetskydden regelbundet för att minimera risken för korskontamination.

16. Stäng instrumentets lådor och stäng AV QIASymphony SP.

Kvalitetskontroll

För att säkerställa en enhetlig produktkvalitet testas varje lotnummer av QIASymphony DSP DNA Mini och Midi Kit med fastställda specifikationer enligt QIAGEN:s ISO-certifierade kvalitetshanteringssystem.

Begränsningar

Systemprestanda har fastställts vid prestandautvärderingsstudier med rening av totalt DNA från humant helblod, buffy coat, vävnader och FFPE-vävnader, liksom virus-DNA från humant helblod.













Det är användarens ansvar att validera systemets prestanda för procedurer som används i deras laboratorium och som inte ingår i QIAGEN:s prestandastudier.




För att minimera risken för negativ påverkan på diagnostiska resultat bör lämpliga kontroller för nedströmsapplikationer användas. För ytterligare validering rekommenderas riktlinjerna enligt International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) i *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text and Methodology*.

Eventuella diagnostiska resultat som erhålls måste tolkas tillsammans med övriga kliniska fynd eller laboratoriefynd.

Symboler

Symbolerna i följande tabell används i denna bruksanvisning.

Symbol	Symboldefinition
 <N>	Innehåller reagenser som räcker för <N> tester
	Utgångsdatum
	Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik
	Katalognummer
	Lotnummer
	Materialnummer (dvs. komponentmärkning)
	Komponenter (dvs. en lista över vad som ingår)
	Antal (dvs. ampuller, flaskor)
Rn	R är revisionen av bruksanvisningen (handboken), n är revisionsnumret
	Volym
	Temperaturbegränsning
	Tillverkare
	Endast för användning med

Symbol	Symboldefinition
EC REP	Auktoriserad representant inom EU
	Läs bruksanvisningen
CONT	Innehåller (innehåll)
WELL	Brunnsnummer (dvs. reagenskassetbrunn)
REAG CART	Reagenskasset
ELU BUF	Elueringsbuffert (ATE-buffert)
IPA	Isopropanol
PROTK	Proteinas K
GITC	Guanidintiocyanat
GuHCL	Guanidinhydroklorid
EtOH	Etanol
MALEIC ACID	Maleinsyra
BRIJ 58	BRIJ 58
LiCl	Litiumklorid
GTIN	GTIN-artikelnummer (Global Trade Item Number)
	Varning
	Vass kant

Felsökningshandbok

Denna felsökningshandbok kan vara till hjälp för att lösa eventuella problem som uppstår. Ytterligare information finns på sidan "Frequently Asked Questions" (Vanliga frågor) på vårt tekniska supportcenter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Dessutom svarar teamet för QIAGEN:s tekniska service gärna på frågor om informationen och protokollet i denna bruksanvisning eller prov- och analysmetoder (för kontaktinformation, se baksidan eller besök www.qiagen.com).

Kommentarer och förslag

Allmän hantering

Felmeddelande som visas på pekskärmen Om ett felmeddelande visas under en protokollkörning hänvisas till de bruksanvisningar som levereras tillsammans med instrumentet.

Precipitate in reagent trough of opened cartridge (Fällning i reagenstråg i öppen kasset)

- a) Buffertavdunstning Alltför stor avdunstning kan leda till ökad saltkoncentration i buffertar. Kassera reagenskassetten (RC). Se till att försegla buffertträgen till en delvis använd reagenskasset (RC) med tätningsremсор för återanvändning när dessa inte används för rening.
- b) Förvaring av reagenskasset (RC) Förvaring av en reagenskasset (RC) under 15 °C kan leda till att fällningar bildas. Vid behov avlägsnar du de tråg som innehåller buffertarna QSL1 och QSB1 från reagenskassetten (RC) och inkuberar i ett vattenbad* vid 37 °C i 30 minuter med sporadiska omskakningar för att lösa upp fällningen. Sätt tillbaka träget på rätt plats. Om du redan har punkterat reagenskassetten (RC) kontrollerar du att träget har förseglats igen med en tätningsremsa för återanvändning och inkuberar hela reagenskassetten (RC) i ett vattenbad* vid 37 °C i 30 minuter med sporadiska omskakningar.

Low DNA yield (Lågt DNA-utbyte)

- a) Magnetpartiklarna var inte helt återsuspenderade Innan du startar förfarandet, måste du kontrollera att magnetpartiklarna är helt återsuspenderade. Vortexblanda i minst 3 minuter före användning.

* Säkerställ att du har kontrollerat, underhållit och kalibrerat instrumenten regelbundet enligt tillverkarens anvisningar.

Kommentarer och förslag

- | | | |
|----|---|--|
| b) | Frysta blodprover eller buffy coat-prover blandades inte på lämpligt sätt efter upptining | Tina frysta blodprover eller buffy coat-prover med lätt omrörning för att garantera en noggrann blandning. |
| c) | Ofullständig provlysning | Kontrollera före användning att buffert QSL1 och QSB1 inte innehåller några fällningar. Vid behov avlägsnar du de tråg som innehåller bufferterna QSL1 och QSB1 från reagenskassetten (RC) och inkuberar i ett vattenbad vid 37 °C i 30 minuter med sporadiska omskakningar för att lösa upp fällningen. Om du redan har punkterat reagenskassetten (RC) ska du kontrollera att trägen förseglas igen med tätningsremсор för återanvändning och inkubera hela reagenskassetten (RC) i 30 minuter vid 37 °C i ett vattenbad med sporadiska omskakningar.* |
| d) | Ofullständig nedbrytning av vävnadsprover | Säkerställ att vävnaden bryts ned helt genom att förlänga inkubationstiden med proteinas K. |
| e) | Tilltäppning av pipettspets på grund av olösligt material | Olösligt material avlägsnades inte från provet innan du startade reningsproceduren på QIASymphony. Tillämpa förbehandlingsproceduren vid behov enligt beskrivning i aktuellt protokollblad, till exempel för viskösa provmaterial. Protokollblad finns på www.qiagen.com/goto/dspdnakits . |
| f) | Dålig buffy coat-beredning vid användning av buffy coat-protokoll | Säkerställ att leukocytfractionen samlas in på ett effektivt sätt. |
| g) | Lågt leukocytantal i helblodsprovet som användes som startmaterial för buffy coat-beredning | Om du använder buffy coat-protokollet ska du öka volymen av det använda helblodet och behålla en konstant volymen av de insamlade leukocyterna. |
| h) | Ofullständig lysning av vävnader | Om lysatet innehåller olösligt material ska du förlänga inkubationstiden med proteinas K. |
| i) | Pellet förlorades under FFPE-förbehandling med xylol/etanol | Undersök proverna noggrant under förbehandling. |

DNA does not perform well in downstream applications (DNA fungerar inte bra i nedströmstillämpningar)

- | | | |
|----|---|--|
| a) | Otillräckligt DNA använt i nedströmstillämpning | Kvantifiera renat DNA med spektrofotometrisk mätning av absorbansen vid 260 nm (se bilaga, sidan 29).* |
|----|---|--|

* Säkerställ att du har kontrollerat, underhållit och kalibrerat instrumenten regelbundet enligt tillverkarens anvisningar.

Kommentarer och förslag

- b) För mycket DNA använt i nedströmstillämpning
- För mycket DNA kan hämma vissa enzymatiska reaktioner. Kvantifiera renat DNA med spektrofotometrisk mätning av absorbansen vid 260 nm (se bilaga, sidan 29).*

A_{260}/A_{280} ratio for purified DNA is low (A_{260}/A_{280} -kvoten för renat DNA är låg)

Absorbansavläsning vid 320 nm subtraherades inte från absorbansavläsningarna som erhållits vid 260 nm och 280 nm

För att korrigera för närvaron av magnetiska partiklar i eluatet bör en absorbansavläsning vid 320 nm utföras och subtraheras från absorbansavläsningarna som erhållits vid 260 nm och 280 nm (se bilaga, sidan 29).*

* Säkerställ att du har kontrollerat, underhållit och kalibrerat instrumenten regelbundet enligt tillverkarens anvisningar.

Bilaga: Kvantifiering och bestämning av renhet av DNA

Kvantifiering av DNA

Koncentrationen av DNA ska bestämmas genom mätning av absorbansen vid 260 nm (A_{260}) i en spektrofotometer. Absorbansavläsningar vid 260 nm bör vara mellan 0,1 och 1,0 för att vara korrekta. En absorbans på 1 enhet vid 260 nm motsvarar 50 µg DNA per milliliter ($A_{260} = 1 = 50 \mu\text{g/ml}$).

Använd ATE-buffert för att späda proverna och kalibrera spektrofotometern.

Kvoten mellan absorbansvärdena vid 260 nm och 280 nm ger en uppskattning av DNA-renheten (se "Renhet av DNA" på sidan 30).

Mät absorbansen vid 320, 280 och 260 nm. Subtrahera absorbansavläsningen som erhållits vid 320 nm från avläsningen som erhållits vid 260 och 280 nm för att korrigera för närvaron av bakgrundsavläsning.

Använd följande formel för att beräkna DNA-koncentration och -utbyte: Koncentration av DNA-prov = $50 \mu\text{g/ml} \times (A_{260} - A_{320}) \times \text{spädningsfaktor}$. Total mängd renat DNA = koncentration x volym av prov i milliliter.

Om de magnetiska partiklarna överfördes i eluatet och kan påverka nedströmstillämpning (t.ex. om renat DNA ska analyseras genom fluorescerande kapillärsekvensering) ska röret som innehåller eluatet först genomgå en lämplig magnetseparator och eluatet ska därefter överföras till ett rent rör (se nedan).

Om de magnetiska partiklarna måste avlägsnas ska provröret med DNA genomgå en lämplig magnetseparator (t.ex. QIAGEN 12-Tube Magnet, katalognr 36912) tills de magnetiska partiklarna har separerats. Om DNA finns på mikroplattor ska mikroplattan genomgå en lämplig magnetseparator (t.ex. QIAGEN 96-Well Magnet Type A, katalognr 36915) tills de magnetiska partiklarna har separerats. Om ingen lämplig magnetisk separator är tillgänglig ska röret innehållande DNA centrifugeras i 1 minut vid hög hastighet i en mikrocentrifug för att pelletera eventuella återstående magnetiska partiklar.

Obs! Vi rekommenderar spädning av provet i motsvarande elueringsbuffert för korrekt kvantifiering av DNA genom absorbans vid 260 nm. Spädning av provet i vatten kan leda till felaktiga värden. Elueringsbufferten har hög absorbans vid 220 nm, vilket kan leda till höga bakgrundsabsorbansvärden om spektrofotometerens nollpunkt inte har ställts in korrekt. Avdunstning av eluat kan potentiellt öka risken för påverkan på mätningen, särskilt när låga eluatmängder används ospädda. Extra elueringsbuffert för användning som blankprov i spektrofotometeren medföljer i en särskild flaska till QIASymphony DSP DNA-kiten.

Renhet av DNA

Renheten bestäms genom att beräkna kvoten mellan korrigerad absorbans vid 260 nm och korrigerad absorbans vid 280 nm, dvs. $(A_{260} - A_{320}) / (A_{280} - A_{320})$. Rent DNA har en A_{260}/A_{280} -kvot på 1,7–1,9.

Beställningsinformation

Produkt	Innehåll	Katalognr
QIASymphony DSP DNA Mini Kit (192)	Inkluderar 2 reagenskassetter och enzymställ plus tillbehör	937236
QIASymphony DSP DNA Midi Kit (96)	Inkluderar 2 reagenskassetter och enzymställ plus tillbehör	937255
Relaterade produkter		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	4 x 50 ml ATL-buffert för användning med QIASymphony-protokoll för vävnad	939016
Deparaffinization Solution (1 x 50 ml)	1 x 50 ml avparaffineringslösning för användning med QIASymphony-protokoll för FFPE-vävnad	939018
Accessory Trough (10)	Tillbehörstråg för användning med QIASymphony SP	997012
Reagent Cartridge Holder (2)	Reagenskassetthållare för användning med QIASymphony SP	997008
Tube Insert, 2 ml, v2, sample carrier, Qsym	Sekundär röradapter (för 2 ml rör med skruvlock) för användning med QIASymphony-rörhållare	9242083
Tube Insert, 11 mm, Revision, sample carrier, Qsym	Primär röradapter (11 mm) för användning med QIASymphony-rörhållare	9242057
Tube Insert, 13 mm, sample carrier, Qsym	Primär röradapter (13 mm) för användning med QIASymphony-rörhållare	9242058

Cooling Adapter, 2 ml, V2, Qsym	Avkylningsadapter för 2 ml rör med skruvlock. För användning i lådan "Eluate" på QIASymphony.	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Avkylningsadapter för EMT-ställ. För användning i lådan "Eluate" på QIASymphony.	9020730
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	8-brunnars provberedningskassetter för användning med QIASymphony SP	997002
8-Rod Covers (144)	8-stavsskydd för användning med QIASymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Engångsfilterspetsar, i ställ (8 x 128). För användning med QIAcube® och QIASymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	Engångsfilterspetsar, i ställ (8 x 128). För användning med QIASymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Spetsavfallspåsar för användning med QIASymphony SP	9013395
12-Tube Magnet	Magnet för att separera magnetiska partiklar i 12 x 1,5 ml eller 2 ml rör	36912
96-Well Magnet Type A	Magnet för att separera magnetiska partiklar i brunnar på plattor med 96 brunnar, 2 x 96-brunnars mikroplattor FB	36915
S-Blocks (24)	96-brunnsblock med 2,2 ml brunnar, 24 per förpackning	19585
Reuse Seal Set (20)	Tätningssatser för återanvändning för att försegla delvis använda QIASymphony-reagenskassetter	997006

Elution Microtubes CL (24 x 96)	Icke-sterila polypropylenrör (0,85 ml maximal kapacitet, mindre än 0,7 ml förvaringskapacitet, 0,4 ml elueringskapacitet). 2 304 i ställ med 96, inkluderar lockremsor.	19588
QIASymphony SP	QIASymphony-provberedningsmodul, 1 års garanti på reservdelar och utförande	9001297

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive QIAGEN-kithandbok eller -bruksanvisning. QIAGEN-kithandböcker och bruksanvisningar finns att tillgå på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN:s tekniska serviceavdelning eller från lokal återförsäljare.

Denna sida har med avsikt lämnats tom

Begränsat licensavtal för QIAasympHony DSP DNA-kit

Användning av denna produkt innebär att köparen eller användaren av produkten godkänner följande villkor:

1. Produkten får enbart användas i enlighet med protokollen som medföljer produkten och denna handbok och får enbart användas tillsammans med komponenter som ingår i kitet. QIAGEN beviljar ingen licens under någon av företagets immateriella tillgångar för användning eller inkorporering av de medföljande komponenterna i detta kit med/i komponenter som inte ingår i detta kit, förutom vad som beskrivs i protokollen som medföljer denna produkt, denna handbok och ytterligare protokoll som finns på www.qiagen.com. Vissa av dessa ytterligare protokoll har tillhandahållits av QIAGEN-användare för QIAGEN-användare. Dessa protokoll är inte noggrant testade eller optimerade av QIAGEN. QIAGEN lämnar ingen garanti för dem och garanterar heller inte att de inte utgör ett intrång på rättigheter för tredje part.
2. Förutom de uttryckligen angivna licenserna kan QIAGEN inte garantera att detta kit och/eller dess användning inte kränker rättigheterna för tredje part.
3. Detta kit och dess komponenter har licensierats för engångsbruk och får inte återanvändas, renoveras eller säljas på nytt.
4. QIAGEN frånsäger sig specifikt alla andra licenser, uttryckliga eller underförstådda, bortsett från dem som uttryckligen angivits.
5. Köparen och användaren av detta kit samtycker till att inte vidta eller tillåta att någon annan vidtar några steg som kan leda till eller underlätta några åtgärder som är förbjudna enligt ovan. QIAGEN kan kräva upphävande av detta begränsade licensavtal i domstol och ska ersättas för alla undersöknings- och rättegångskostnader, inklusive advokatkostnader, vid eventuell åtgärd för att upprätthålla detta begränsade licensavtal eller någon av företagets immateriella rättigheter avseende kitet och/eller någon av dess komponenter.

För uppdaterade licensvillkor, se www.qiagen.com.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAasympHony®, QIAcube® (QIAGEN Group); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Registrerade namn, varumärken, etc. som används i detta dokument, även om de inte angetts som sådana, ska inte anses som oskyddade i lag. 08/2015 HB-0977-004

© 2012–2015 QIAGEN, med ensamrätt.

Beställning www.qiagen.com/contact | Teknisk support support.qiagen.com | Webbplats www.qiagen.com