

QIASymphony SP-protokolark

DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP-protokol

Generel information

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-kittet.

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

September 2012



Sample & Assay Technologies

Skuffen "Sample" (Prøve)

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

i/r = ikke relevant.

Skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbrugsartikler)

| | |
|--------------------------------|---|
| Position A1 og/eller A2 | Reagenspatron |
| 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 |
| Holder til flaske til flydende affald | 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

| | En batch, 24 prøver* | To batches, 48 prøver* | Tre batches, 72 prøver* | Fire batches, 96 prøver* |
|--|----------------------------|---------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| Engangs filterspidser, 200 μ l ^{††} | 4 | 4 | 4 | 8 |
| Engangs filterspidser, 1500 μ l ^{††} | 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

Elueringsvolumen vælges på berøringsskærmen. Afhængig af prøvetypen og DNA-indholdet kan den endelige eluatvolumen variere med op til 15 μ l mindre end den valgte mængde. Da eluatvolumen kan variere anbefaler vi at tjekke den faktiske eluatvolumen, når der anvendes et automatiseret analyseopsætningssystem, som ikke verificerer eluatvolumen 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

Når der arbejdes med kemikalier, skal der altid bæres egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller. Der findes mere information i de tilhørende sikkerhedsdatablade (material safety data sheets, SDSs), som kan fås hos den pågældende leverandør.

Vigtigt punkt før start

- De magnetiske partikler i QIASymphony 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 x 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-oprensningsproceduren, 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-oprensningsproceduren.

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.

For opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle QIAGEN kit-håndbog eller -brugervejledning. QIAGEN kit-håndbøger og brugervejledninger kan findes på www.qiagen.com eller kan rekvireres fra QIAGENS tekniske serviceafdeling eller den lokale leverandør.

Varemærker: QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Registrerede navne, varemærker osv. anvendt i dette dokument, selv når de ikke specifikt er markeret som sådan, skal ikke betragtes som værende juridisk ubeskyttede.

© 2012 QIAGEN. Alle rettigheder forbeholdes.

www.qiagen.com

Australia ■ 1-800-243-800

Austria ■ 0800/281010

Belgium ■ 0800-79612

Canada ■ 800-572-9613

China ■ 021-51345678

Denmark ■ 80-885945

Finland ■ 0800-914416

France ■ 01-60-920-930

Germany ■ 02103-29-12000

Hong Kong ■ 800 933 965

Ireland ■ 1800 555 049

Italy ■ 800 787980

Japan ■ 03-5547-0811

Korea (South) ■ 1544 7145

Luxembourg ■ 8002 2076

The Netherlands ■ 0800 0229592

Norway ■ 800-18859

Singapore ■ 65-67775366

Spain ■ 91-630-7050

Sweden ■ 020-790282

Switzerland ■ 055-254-22-11

UK ■ 01293-422-911

USA ■ 800-426-8157



Sample & Assay Technologies