

Desember 2017

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

## DNA\_Buffy\_Coat\_200\_V7 DSP protokoll

Dette dokumentet er DNA\_Buffy\_Coat\_200\_V7 DSP QIASymphony SP protokollark, R2, for QIASymphony DSP DNA Mini Kit, versjon 1.

## Generell informasjon

QIASymphony DSP DNA Kit er beregnet for bruk i in vitro-diagnostikk.

Denne protokollen er for rensing av totalt genomisk og mitokondrialt DNA fra fersk eller fryst buffycoat ved hjelp av QIASymphony SP og QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

<b>Sett</b>	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (kat.nr. 937236)
<b>Prøvemateriale</b>	Buffy coat (EDTA, sitrat eller heparin, antikoaguleret)
<b>Protokollnavn</b>	DNA_BC_200_V7_DSP
<b>Standard analysekontrollsett</b>	ACS_BC_200_V7_DSP
<b>Redigerbar</b>	Elueringsvolum: 200 µl, 300 µl, 400 µl
<b>Nødvendig programversjon</b>	Versjon 4.0 eller høyere

## Skuffen "Sample" (Prøve)

<b>Prøvetype</b>	Buffy coat (EDTA, sitrat eller heparin, antikoaguleret)
<b>Prøvevolum</b>	Avhenger av typen prøverør som brukes. Mer informasjon finnes på <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .
<b>Primære prøverør</b>	ikke relevant
<b>Sekundære prøverør</b>	Mer informasjon finnes på <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .
<b>Innlegg</b>	Avhenger av typen prøverør som brukes. Mer informasjon finnes på <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .

n/a = ikke relevant.

## Skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbruksartikler)

<b>Posisjon A1 og/eller A2</b>	Reagenskasset
<b>Posisjon B1</b>	ikke relevant
<b>Spisstativholder 1-17</b>	Engangsfilterspisser, 200 µl eller 1500 µl
<b>Enhetsbokholder 1-4</b>	Enhetsbokser inneholder prøveklargjøringskassetter eller 8-stangdeksler

n/a = ikke relevant.

## Skuffen "Waste" (Avfall)

Enhetsboksholder 1-4	Tomme enhetsbokser
Avfallsposeholder	Avfallspose
Holder for væskeavfallsflaske	Tom væskeavfallsflaske

## Skuffen "Eluate" (Eluat)

Elusjonsstativ (vi anbefaler bruk av åpning 1, nedkjølingsposisjon)	Mer informasjon finnes på <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .
---	--

## Nødvendige plastdeler

	Ett parti, 24 prøver*	To partier, 48 prøver*	Tre partier, 72 prøver*	Fire partier, 96 prøver*
Filterspisser til engangsbruk, 200 µl†	2	2	2	2
Filterspisser til engangsbruk, 1500 µl†	110	212	314	416
Prøveklargjøringskassetter	18	36	54	72
8-stangdeksler‡	3	6	9	12

\* Bruk av mindre enn 24 prøver per omgang reduserer antall filterspisser til engangsbruk som kreves per kjøring.

† Det er 32 filterspisser/spisstativ.

‡ Antall påkrevde filterspisser omfatter filterspisser for 1 beholdningskanning per reagenskasset.

§ Det er 28 prøveklargjøringskassetter/enhetseske.

¶ Det er tolv 8-stangdeksler/enhetseske.

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

## Elueringsvolum

Elusjonsvolumet velges på berøringskjermen. 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. Eluering i lavere volumer øker den endelige DNA-konsentrasjonen, men reduserer utbyttet en aning. Vi anbefaler å bruke et elueringsvolum egnet for den tiltenkte nedstrømsapplikasjon.

## Klargjøring av prøvematerialer

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

### Viktige punkter før du starter

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

### Buffy coat

Buffy coat er en leukocytberiket fraksjon av fullblod. Effektiviteten til leukocytberikning er avhengig av prosedyren som brukes for å klargjøre buffy coat og med hvilken nøyaktighet buffy coat-laget blir ekstrahert. Klargjør buffy coat 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 buffy coat, med konsentrerte leukocytter, og det nedre laget inneholder konsentrerte erytrocytter. Omtrent 1 ml leukocytfraksjon høstes fra 10 ml sentrifugert fullblod som i gjennomsnitt gir en 5-6x-berikning. 10 ml fullblod med en telling av hvite blodlegemer på  $6 \times 10^6$  celler/ml resulterer for eksempel i 1 ml buffy coat. Antas en 5x anriking av hvite blodlegemer, fører dette til  $3 \times 10^7$  celler/ml. I en protokoll som bruker 200 µl buffy coat vil  $6 \times 10^6$  celler bli brukt.

For å unngå overbelastning av DNA-rensesprosedyren bør man ikke tillage buffy coatprøver på >10x berikning. Hvis buffy coat-prøver er beriket >10x, fortynnes prøvene til 10x berikning eller mindre med PBS eller bruk mindre startmateriale i DNA-rensesprosedyren.

Buffy coat-prøver kan brukes umiddelbart eller oppbevares ved –20 °C eller –70 °C for rensing av DNA senere. Frosne 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.

## Endringshistorikk

Dokumentets revisjonshistorikk	
R2 12/2017	Oppdatering for QIASymphony programvareversjon 5.0

For oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, se den respektive håndboken eller bruksanvisningen for QIAGEN® Kit. Håndbøker og bruksanvisninger for QIAGEN Kits er tilgjengelige på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan leveres fra QIAGENS tekniske tjenester eller den lokale distributøren.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN-gruppen). Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet skal ikke anses som ikke-beskyttet ved lov selv når de ikke er spesielt merket som sådan.  
12/2017 HB-0977-S05-002 © 2017 QIAGEN. Med enerett.

---

Bestilling [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Teknisk støtte [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Nettside [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)