

Fiche de protocole du QIAasymphony SP

Protocole DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP

Informations générales

Pour utilisation en diagnostic in vitro.

Ce protocole s'applique à la purification de l'ADN génomique et mitochondrial total réalisée à partir d'une couche leuco-plaquettaire fraîche ou congelée avec QIAasymphony® SP et le kit QIAasymphony DSP DNA Midi.

Kit	QIAasymphony DSP DNA Midi Kit (référence 937255)
Matériel de prélèvement	Couche leuco-plaquettaire (EDTA, citrate ou héparine anti-coagulé[e])
Nom de protocole	DNA_BC_400_V6_DSP
Jeu de témoins d'analyse par défaut	ACS_BC_400_V6_DSP
Données	Volume d'élution : 200 µl, 400 µl
Version logicielle requise	Version 4.0

Septembre 2012



Sample & Assay Technologies

Tiroir « Sample » (Échantillon)

Type d'échantillon	Couche leuco-plaquettaire (EDTA, citrate ou héparine anti-coagulé[e])
Volume d'échantillon	Dépend du type de tube utilisé pour l'échantillon ; pour en savoir plus consulter la page www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Tubes d'échantillon primaires	n/a
Tubes d'échantillon secondaires	Pour plus d'informations, voir www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Inserts	Dépend du type de tube utilisé pour l'échantillon ; pour en savoir plus consulter la page www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

n/a = non applicable.

Tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)

Position A1 et/ou A2	Cartouche de réactifs
Position B1	n/a
Support de portoir de cônes 1 à 17	Cônes munis de filtre jetables, 200 µl ou 1500 µl
Support de boîte d'unités 1 à 4	Boîtes d'unités contenant des cartouches de préparation d'échantillons ou des manchons pour 8 barreaux

n/a = non applicable.

Tiroir « Waste » (Poubelle)

Support de boîte d'unités 1 à 4	Boîtes d'unités vides
Support pour sac poubelle	Sac poubelle
Support pour flacon à déchets liquides	Flacon à déchets liquides vide

Tiroir « Eluate » (Éluat)

Portoir d'éluat (il est recommandé d'utiliser la fente 1, position de refroidissement)

Pour plus d'informations, voir www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Matériel en plastique requis

	Un lot, 24 échantillons*	Deux lots, 48 échantillons*	Trois lots, 72 échantillons*	Quatre lots, 96 échantillons*
Cônes munis de filtres jetables, 200 µl ^{†‡}	4	4	4	8
Cônes munis de filtres jetables, 1500 µl ^{†‡}	110	212	314	424
Cartouches de préparation d'échantillons [§]	18	36	54	72
Manchons pour 8 barreaux [¶]	3	6	9	12

* L'utilisation de moins de 24 échantillons par lot réduit le nombre requis de cônes munis de filtres jetables par cycle.

† Il y a 32 cônes munis de filtres par portoir.

‡ Le nombre de cônes munis de filtres requis correspond à 1 inventaire par cartouche de réactif.

§ Il y a 28 cartouches de préparation d'échantillons par boîte d'unités.

¶ Il y a douze manchons pour 8 barreaux par boîte d'unités.

Remarque : Les nombres indiqués de cônes munis de filtres peuvent être différents des nombres affichés sur l'écran tactile en fonction des paramètres. Il est recommandé de charger le nombre maximal de cônes possible.

Volume d'éluat

Le volume d'éluat est sélectionné sur l'écran tactile. En fonction du type d'échantillon et de la teneur en ADN, le volume d'éluat final peut varier jusqu'à un volume inférieur de 15 μl par rapport au volume sélectionné. En raison de l'éventuelle variation du volume d'éluat, il est recommandé de vérifier le volume d'éluat réel lors de l'utilisation d'un système de préparation automatisée des analyses, qui ne vérifie pas le volume d'éluat avant le transfert. Une éluat en volumes plus petits augmente la concentration d'ADN finale, mais diminue légèrement le rendement. Il est recommandé d'utiliser un volume d'éluat approprié pour l'application prévue en aval.

Préparation de matériel de prélèvement

En cas de manipulation de produits chimiques, toujours porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées disponibles auprès du fournisseur du produit.

Remarque préliminaire importante

- Les particules magnétiques de QIASymphony peuvent copurifier l'ARN éventuellement présent dans l'échantillon. Afin de minimiser le contenu en ARN dans l'échantillon, ajoutez de la ribonucléase (ARNase) à l'échantillon avant d'entamer la procédure. La concentration finale en ARNase doit être de 2 mg/ml.

Couche leuco-plaquettaire

La couche leuco-plaquettaire est une fraction de sang total enrichie en leucocytes. L'efficacité de l'enrichissement aux leucocytes dépend de la procédure appliquée pour préparer la couche leuco-plaquettaire et de l'exactitude avec laquelle la couche est extraite. Préparez la couche leuco-plaquettaire en centrifugeant des échantillons de sang total contenant un anticoagulant standard (EDTA, citrate ou héparine) entre 900 et 1100 x g pendant 10 minutes à température ambiante (15 à 25 °C). Après centrifugation, 3 fractions différentes sont discernables : la couche transparente supérieure constitue le plasma ; l'intermédiaire est la couche leuco-plaquettaire contenant des leucocytes concentrés ; et la couche inférieure se compose d'érythrocytes concentrés. Il faut récupérer environ 1 ml de la fraction contenant des leucocytes à partir de 10 ml de sang total centrifugé qui donne en moyenne un enrichissement 5 à 6x. Par exemple, 10 ml de sang total dont la numération en globules blancs atteint 6×10^6 cellules/ml donne une couche leuco-plaquettaire de 1 ml. Si l'on part d'un enrichissement de 5x des globules blancs, on obtient 3×10^7 cellules/ml. Par conséquent, dans le cadre d'un protocole exploitant une couche leuco-plaquettaire de 400 μl , $1,2 \times 10^7$ cellules seront utilisées.

Pour éviter de surcharger la procédure de purification de l'ADN, ne préparez pas d'échantillons de couche leuco-plaquettaire d'un enrichissement >10x. Si les échantillons de couche leuco-plaquettaire sont issus d'un enrichissement >10x, diluez-les pour obtenir un enrichissement 10x maximum avec une solution physiologique tamponnée au phosphate (PBS) ou utilisez une substance moins amorçante dans le cadre de la procédure de purification de l'ADN.

Les échantillons de couche leuco-plaquettaire peuvent être utilisés directement ou entreposés à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ou $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour purification ultérieure de l'ADN. Il faut décongeler rapidement les échantillons congelés au bain-marie à $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ en les agitant doucement pour garantir un bon mélange, puis les laisser s'équilibrer à température ambiante (entre 15 et $25\text{ }^{\circ}\text{C}$) avant de commencer la procédure. Pour garantir un transfert d'échantillon fiable, éviter la formation de mousse dans les tubes d'échantillon. Essayez d'éviter la formation de caillots sanguins dans les échantillons et, si nécessaire, transvasez l'échantillon sans caillots dans un nouveau tube.

Pour obtenir les dernières informations sur la licence et les clauses de responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN respectif. Les manuels des kits et manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être sollicités auprès des Services techniques QIAGEN ou du distributeur local.

Marques de commerce : QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Les noms enregistrés, les marques déposées etc., utilisés dans ce document, même si non mentionnés comme tels ne peuvent être considérés comme non protégés juridiquement.

© 2012 QIAGEN, tous droits réservés.

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