

Scheda del protocollo QIAasympphony SP

DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP protocol

Informazioni generali

Per uso diagnostico in vitro.

Questo protocollo è previsto per la purificazione del DNA genomico totale e mitocondriale da buffy coat fresco o congelato utilizzando il QIAasympphony® SP e il kit QIAasympphony DSP DNA Midi.

Kit	QIAasympphony DSP DNA Midi Kit (cat. n. 937255)
Campioni	Buffy coat (trattato con anticoagulante EDTA, citrato o eparina)
Nome del protocollo	DNA_BC_400_V6_DSP
Set di controllo del test predefinito	ACS_BC_400_V6_DSP
Parte modificabile	Volume di eluizione: 200 µl, 400 µl
Versione del software necessaria	Versione 4.0

Settembre 2012



Sample & Assay Technologies

Cassetto "Sample" (Campione)

Tipo di campione	Buffy coat (trattato con anticoagulante EDTA, citrato o eparina)
Volume del campione	Dipende dal tipo di provetta per campioni utilizzata; per maggiori informazioni consultare www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Provette per campioni primarie	n/a
Provette per campioni secondarie	Per maggiori informazioni consultare www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Inseriti	Dipendono dal tipo di provetta per campioni utilizzata; per maggiori informazioni consultare www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

n/a = non applicabile

Cassetto "Reagents and Consumables" (Reagenti e materiali di consumo)

Posizione A1 e/o A2	Cartuccia reagenti
Posizione B1	n/a
Supporto per rack per puntali 1-17	Puntali con filtro monouso, 200 μ l o 1500 μ l
Supporto per box unitari 1-4	Box unitari contenenti cartucce per la preparazione dei campioni o coperchi per 8 barre

n/a = non applicabile

Cassetto "Waste" (Materiali di scarto)

Supporto per box unitari 1-4	Box unitari vuoti
Supporto per sacchetto dei materiali di scarto	Sacchetto dei materiali di scarto
Supporto per contenitore dei residui liquidi	Contenitore dei residui liquidi vuoto

Cassetto “Eluate” (Eluito)

Rack per eluizione (si consiglia di utilizzare l'apertura 1, posizione di raffreddamento)

Per maggiori informazioni consultare www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Plastica da laboratorio occorrente

	Un lotto, 24 campioni*	Due lotti, 48 campioni*	Tre lotti, 72 campioni*	Quattro lotti, 96 campioni*
Puntali con filtro monouso, 200 µl ^{†‡}	4	4	4	8
Puntali con filtro monouso, 1500 µl ^{†‡}	110	212	314	424
Cartucce per la preparazione dei campioni [§]	18	36	54	72
Coperchi per 8 barre [¶]	3	6	9	12

* L'impiego di meno di 24 campioni per lotto riduce il numero di puntali con filtro monouso necessari per ogni processazione.

† Ci sono 32 puntali con filtro in ogni rack corrispondente.

‡ La quantità di puntali con filtro necessari include i puntali con filtro per 1 scansione di inventario per ogni cartuccia reagenti.

§ Ci sono 28 cartucce per la preparazione dei campioni in ogni box unitario.

¶ Ci sono dodici coperchi per 8 barre in ogni box unitario.

Nota: Le quantità indicate per i puntali con filtro possono variare da quelle visualizzate sul touch screen a seconda delle impostazioni. Si consiglia di caricare la massima quantità possibile di puntali.

Volume di eluizione

Il volume di eluizione viene selezionato sul touch screen. In base al tipo di campione e al contenuto di DNA, il volume di eluito finale può variare di ben 15 µl in meno rispetto al volume selezionato. Data la possibile variazione del volume di eluito, si consiglia di controllare l'effettivo volume di

eluito quando si utilizza un sistema automatizzato di setup del test che non verifica il volume di eluito prima del trasferimento. L'eluizione in volumi inferiori aumenta la concentrazione finale di DNA, ma riduce leggermente la resa. Si consiglia di utilizzare un volume di eluizione adeguato alla prevista applicazione a valle.

Preparazione dei campioni

Durante l'uso di sostanze chimiche, indossare sempre un adeguato camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali di protezione. Per maggiori informazioni, consultare le rispettive schede tecniche di sicurezza (SDS), reperibili presso il fornitore.

Note importanti prima di iniziare

- Le particelle magnetiche QIAasympphony possono copurificare l'RNA, se presente nel campione. Per ridurre al minimo il contenuto di RNA nel campione, aggiungere RNasi A al campione prima di iniziare la procedura. La concentrazione finale di RNasi A deve essere pari a 2 mg/ml.

Buffy coat

Il buffy coat è una frazione di sangue intero arricchita di leucociti. L'efficacia dell'arricchimento di leucociti dipende dalla procedura utilizzata per preparare il buffy coat e dalla precisione con cui viene estratto il buffy coat. Preparare il buffy coat centrifugando i campioni di sangue intero contenenti un anticoagulante standard (EDTA, citrato o eparina) a 900–1100 x g per 10 minuti a temperatura ambiente (15–25°C). Dopo la centrifugazione, si possono distinguere 3 diverse frazioni: lo strato trasparente superiore è il plasma; lo strato intermedio è il buffy coat e contiene i leucociti concentrati; lo strato inferiore contiene gli eritrociti concentrati. Da 10 ml di sangue intero centrifugato si dovrebbe raccogliere circa 1 ml di frazione contenente in media un arricchimento di leucociti di 5–6x. Ad esempio, 10 ml di sangue intero con una conta leucocitaria di 6×10^6 cellule/ml permettono di ottenere 1 ml di buffy coat. Ipotizzando un arricchimento di leucociti di 5x, si ottengono 3×10^7 cellule/ml. Pertanto, in un protocollo che utilizza 400 µl di buffy coat si useranno $1,2 \times 10^7$ cellule.

Per evitare di sovraccaricare la procedura di purificazione del DNA, non preparare campioni di buffy coat con arricchimento >10x. Se i campioni di buffy coat presentano un arricchimento >10x, diluire i campioni con PBS fino ad ottenere un arricchimento pari o inferiore a 10x oppure utilizzare una minore quantità di materiale di partenza nella procedura di purificazione del DNA.

I campioni di buffy coat possono essere utilizzati immediatamente oppure conservati a –20°C o –70°C per la purificazione del DNA in un momento successivo. I campioni congelati devono essere scongelati rapidamente in un bagnomaria a 37°C con una leggera agitazione per garantire un'accurata miscelazione e poi portati a temperatura ambiente (15–25°C) prima di iniziare la procedura. Per garantire un corretto trasferimento dei campioni, evitare la formazione di schiuma nelle provette dei campioni. Cercare di evitare la formazione di coaguli di sangue nei campioni e, se necessario, trasferire il campione senza coaguli in una provetta pulita.

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per i disclaimer specifici dei prodotti, consultare il manuale del kit QIAGEN specifico. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili nel sito www.qiagen.com, oppure possono essere richiesti al servizio di assistenza tecnica QIAGEN o al proprio distributore locale.

Marchi commerciali: QIAGEN®, QIASymphony® (Gruppo QIAGEN). I marchi, nomi registrati ecc. utilizzati nel presente documento, anche se non contrassegnati specificamente come tali, vanno considerati protetti dalla legge.

© 2012 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

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