

Diciembre 2017

Hoja de protocolo del instrumento QIAasymphony[®] SP

Protocolo DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP

Este documento es la *Hoja de protocolo del instrumento QIAasymphony SP DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP, R3*, para el QIAasymphony DSP DNA Mini Kit, versión 1.

Información general

El QIASymphony DSP DNA Kit se ha diseñado para diagnóstico *in vitro*.

Este protocolo está indicado para la purificación de ADN mitocondrial y genómico total a partir de una capa leucocítica fresca o congelada utilizando el instrumento QIASymphony SP y el QIASymphony DSP DNA Midi Kit.

Kit	QIASymphony DSP DNA Midi Kit (n.º de catálogo 937255)
Material de muestra	Capa leucocítica (anticoagulada con EDTA, citrato o heparina)
Nombre del protocolo	DNA_BC_400_V6_DSP
Conjunto de controles del ensayo predeterminado	ACS_BC_400_V6_DSP
Editable	Volumen de elución: 200 µl, 400 µl
Versión del software requerida	Versión 4.0 o superior

Cajón "Sample" (muestras)

Tipo de muestra	Capa leucocítica (anticoagulada con EDTA, citrato o heparina)
Volumen de muestra	Depende del tipo de tubo de muestra utilizado; si desea obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Tubos de muestra primarios	n/a
Tubos de muestra secundarios	Si desea obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Insertos	Depende del tipo de tubo de muestra utilizado; si desea obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

n/a = no aplicable.

Cajón "Reagents and Consumables" (reactivos y consumibles)

Posición A1 o A2	Cartucho de reactivos
Posición B1	n/a
Soporte de gradillas de puntas 1-17	Puntas con filtro desechables, 200 µl o 1500 µl
Soporte de caja unitaria 1-4	Cajas unitarias que contienen cartuchos de preparación de muestras o cubiertas para 8 barras

n/a = no aplicable.

Cajón "Waste" (residuos)

Soporte de caja unitaria 1-4	Cajas unitarias vacías
Soporte de la bolsa de desechos	Bolsa de desechos
Soporte para frasco de desechos líquidos	Frasco de desechos líquidos vacío

Cajón "Eluate" (eluidos)

Gradilla de elución (recomendamos utilizar la ranura 1, posición de refrigeración)	Si desea obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphanbooks .
--	---

Materiales plásticos necesarios

	Un lote, 24 muestras*	Dos lotes, 48 muestras*	Tres lotes, 72 muestras*	Cuatro lotes, 96 muestras*
Puntas con filtro desechables, 200 µl [†]	4	4	4	8
Puntas con filtro desechables, 1500 µl [‡]	110	212	314	424
Cartuchos de preparación de muestras [§]	18	36	54	72
Cubiertas para 8 barras [¶]	3	6	9	12

* Si se utilizan menos de 24 muestras por lote, se reduce el número de puntas con filtro desechables necesarias por serie analítica.

[†] Hay 32 puntas con filtro por gradilla de puntas.

[‡] El número de puntas con filtro necesarias incluye las puntas con filtro para 1 examen de inventario por cartucho de reactivos.

[§] Hay 28 cartuchos de preparación de muestras por caja unitaria.

[¶] Hay doce cubiertas para 8 barras por caja unitaria.

Nota: Los números de puntas con filtro proporcionados pueden diferir de los números mostrados en la pantalla táctil dependiendo de la configuración. Recomendamos cargar el número máximo posible de puntas.

Volumen de elución

El volumen de elución se selecciona en la pantalla táctil. En función del tipo de muestra y del contenido de ADN, el volumen final de eluido puede ser en hasta 15 µl inferior al volumen seleccionado. Debido a que el volumen de eluido puede diferir, recomendamos comprobar el volumen de eluido real cuando se utilice un sistema de preparación automatizada del ensayo que no verifique el volumen de eluido antes de la transferencia. Los volúmenes de eluido más bajos aumentan la concentración final de ADN, pero reducen ligeramente el rendimiento. Recomendamos utilizar un volumen de elución adecuado para la aplicación anterógrada prevista.

Preparación del material de muestra

Siempre que trabaje con productos químicos, utilice una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras. Para obtener más información, consulte las hojas de datos sobre seguridad (safety data sheets, SDS) correspondientes, que puede solicitar al proveedor del producto.

Cuestión importante antes de comenzar

- Si la muestra contiene ARN, este puede ser copurificado por las partículas magnéticas QIAAsymphony. Para reducir al mínimo el contenido de ARN de la muestra, añada ARNasa A a la muestra antes de iniciar el procedimiento. La concentración final de ARNasa A debe ser de 2 mg/ml.

Capa leucocítica

La capa leucocítica es una fracción de la sangre con enriquecimiento de leucocitos. La eficiencia del enriquecimiento de leucocitos depende del procedimiento empleado para preparar la capa leucocítica y de la exactitud con la que se extrae la capa leucocítica. Prepare la capa leucocítica centrifugando muestras de sangre entera que contengan un anticoagulante convencional (EDTA, citrato o heparina) a 900-1100 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente (15-25 °C). Después de la centrifugación, pueden distinguirse tres fracciones diferentes: la capa transparente superior es plasma, la capa intermedia es la capa leucocítica, que contiene leucocitos concentrados, y la capa inferior contiene eritrocitos concentrados. Debe obtenerse aproximadamente 1 ml de fracción con leucocitos a partir de 10 ml de sangre centrifugada, lo cual, por término medio, proporciona un enriquecimiento de x 5 a x 6. Por ejemplo, 10 ml de sangre entera con un recuento de leucocitos de 6×10^6 células/ml da lugar a 1 ml de capa leucocítica. Suponiendo un enriquecimiento de leucocitos de x 5, esto da lugar a 3×10^7 células/ml. Por consiguiente, en un protocolo que utiliza 400 µl de capa leucocítica, se utilizarán $1,2 \times 10^7$ células.

Para evitar sobrecargar el procedimiento de purificación del ADN, no prepare muestras de capa leucocítica con enriquecimientos superiores a x 10. Si las muestras de capa leucocítica tienen un enriquecimiento > x 10, diluya las muestras hasta un enriquecimiento igual o inferior a x 10 con solución salina tamponada con fosfato o utilice menos material de partida en el procedimiento de purificación del ADN.

Las muestras de capa leucocítica pueden utilizarse inmediatamente o conservarse a -20 °C o a -70 °C para la purificación del ADN en una fecha posterior. Las muestras congeladas deben descongelarse rápidamente en un baño de agua a 37 °C con una agitación suave para garantizar la homogeneización y, a continuación, debe dejarse que se equilibren a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de iniciar el procedimiento. Para garantizar una transferencia fiable de las muestras, evite que se forme espuma en los tubos de muestra. Procure evitar la presencia de coágulos de sangre en las muestras y, en caso necesario, transfiera la muestra sin coágulos a un tubo nuevo.

Historial de revisiones

Historial de revisiones del documento	
R3 12/2017	Actualización para versión 5.0 del software QIASymphony.

Si desea obtener información actualizada sobre la licencia y las exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual o la guía del usuario del kit de QIAGEN® correspondiente. Los manuales del usuario y los manuales del kit de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse a los servicios técnicos de QIAGEN o a su distribuidor local.

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Los nombres registrados, las marcas comerciales, etc. utilizados en este documento, incluso cuando no aparecen marcados como tales, están protegidos por la legislación.
12/2017 HB-0977-S06-003 © 2017 QIAGEN. Reservados todos los derechos.

Pedidos www.qiagen.com/shop | Asistencia técnica support.qiagen.com | Sitio web www.qiagen.com