

Detsember 2017

# QIAsymphony<sup>®</sup> SP protokollileht

DNA\_Buffy\_Coat\_200\_V7 DSP protocol

See dokument on DNA\_Buffy\_Coat\_200\_V7 DSP QIAsymphony SP protokollileht, R2, komplekti QIAsymphony DSP DNA Mini Kit jaoks, 1. versioon.

## Üldteave

Komplekt QIAasymphony DSP DNA Kit on ette nähtud kasutamiseks in vitro diagnostikas.

Antud protokoll on QIAasymphony SP ja QIAasymphony DSP DNA Mini Kit-iga kogu genoomse ja mitokondriaalse DNA puhastamiseks värskest või külmutatud buffy coatist (leukotsüütide ja trombotsüütide kiht).

|   |  |
|---|--|
| <b>Komplekt</b>                         | QIAasymphony DSP DNA Mini Kit (katalooginr 937236)               |
| <b>Proovimaterjal</b>                   | Buffy coat (EDTA, tsitraat või liitiumhepariin antikoagulandiga) |
| <b>Protokolli nimetus</b>               | DNA_BC_200_V7_DSP  |
| <b>Analüüsi kontrolli vaikekomplekt</b> | ACS_BC_200_V7_DSP  |
| <b>Muudetav</b>                         | Elueerimismaht: 200 µl, 300 µl, 400 µl                           |
| <b>Nõutav tarkvaraversioon</b>          | Versioon 4.0 või uuem  |

## „Sample“ (Proovi) sahtel

|                                    |   |
|------------------------------------|---|
| <b>Proovitüüp</b>                  | Buffy coat (EDTA, tsitraat või liitiumhepariin antikoagulandiga)  |
| <b>Proovi maht</b>                 | Sõltub kasutatavast proovikatsutist; lisateavet vt <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> . |
| <b>Primaarsed proovikatsutid</b>   | n/a   |
| <b>Sekundaarsed proovikatsutid</b> | Lisateabe saamiseks külastage veebilehte <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .           |
| <b>Siseosad</b>                    | Sõltub kasutatavast proovikatsutist; lisateavet vt <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> . |

n/a = pole kohaldatav

## „Reagents and Consumables“ (Reaktiivide ja tarvikute) sahtel

|                                      |   |
|--------------------------------------|---|
| <b>Positsioon A1 ja/või A2</b>       | Reaktiivi kassett   |
| <b>Positsioon B1</b>                 | n/a   |
| <b>Otsikute statiivi hoidik 1-17</b> | Ühekordsed filterotsikud, 200 µl või 1500 µl                                      |
| <b>Ühiku karbi hoidik 1-4</b>        | Ühiku karbid, mis sisaldavad proovi ettevalmistamise kassette või 8-vardaga kaasi |

n/a = pole kohaldatav

## „Waste“ (Jäätmete) sahtel

|                             |                          |
|-----------------------------|--------------------------|
| Ühiku karbi hoidik 1-4      | Tühjad ühiku karbid      |
| Jäätmekoti hoidik           | Jäätmekott               |
| Vedeljäätmete pudeli hoidik | Tühi vedeljäätmete pudel |

## „Eluate“ (Eluaadi) sahtel

|   |   |
|---|---|
| Elueerimisstaativ (soovitame kasutada pesa 1, jahutusasend) | Lisateabe saamiseks külastage veebilehte <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> . |
|---|---|

## Vajalik plastvara

|  | Üks partii,<br>24 proovi* | Kaks partiid,<br>48 proovi* | Kolm partiid,<br>72 proovi* | Neli partiid,<br>96 proovi* |
|--|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Ühekordsed filterotsikud,<br>200 µl††  | 2                         | 2                           | 2                           | 2                           |
| Ühekordsed filterotsikud,<br>1500 µl†† | 110                       | 212                         | 314                         | 416                         |
| Proovi ettevalmistamise<br>kassetid§   | 18                        | 36                          | 54                          | 72                          |
| 8-wardaga kaaned¶                      | 3                         | 6                           | 9                           | 12                          |

\* Partii kohta vähem kui 24 proovi kasutamine vähendab vajaminevate ühekordsete filterotsikute arvu töötsükli kohta.

† Filterotsikute staativis on 32 filterotsikut.

‡ Vajalike filterotsikute arvu hulka on arvatud filterotsikud, mida on vaja üheks inventariskanniks reaktiivi kasseti kohta.

§ Ühiku karbis on 28 proovi ettevalmistamise kassetti.

¶ Ühiku karbis on kaksteist 8-wardaga kaant.

Märkus. Ellpooltoodud filterotsikute arv võib sõltuvalt seadistustest erineda puutekraanil kuvatavast arvust. Soovitame masinasse laadida maksimaalse võimaliku hulga otsikuid.

## Elueerimismaht

Elueerimismaht valitakse puutekraanilt. Sõltuvalt proovituübist ja DNA sisaldusest võib lõplik eluaadi maht varieeruda ja olla kuni 15 µl väiksem kui valitud maht. Tulenevalt asjaolust, et eluaadi maht võib varieeruda, soovitame kontrollida tegelikku eluaadi mahtu, kui kasutate automatiseeritud analüüsi seadistamise süsteemi, mis enne ülekandmist eluaadi mahtu ei kontrolli. Elueerimine väiksemates kogustes tõstab lõpliku DNA kontsentratsiooni, kuid vähendab vähesel määral saagist. Soovitame kasutada elueerimismahtu, mis sobiks soovitud allasuunas rakenduse jaoks.

## Proovimaterjali ettevalmistamine

Kemikaalidega töötamisel kandke alati sobivat laborikitlit, ühekordselt kasutatavaid kindaid ja kaitseprille. Lisateabe saamiseks tutvuge toote tarnija poolt pakutava vastava ohutuskaardiga (safety data sheets, SDSs).

Enne alustamist pidage silmas järgmist

- QIA Symphony magnetilised osakesed võivad puhastada ka RNA-d, kui seda proovis leidub. Selleks, et vähendada RNA sisaldust proovis, lisage enne protseduuri alustamist proovile RNAas A-d. Lõplik RNAas A kontsentratsioon peaks olema 2 mg/ml.

### Buffy coat

Buffy coat on täisvere leukotsüütide rikas fraktsioon. Leukotsüütidega rikastamise tõhusus sõltub buffy coat'i valmistamiseks kasutatavast protseduurist ja buffy coat kihi ekstraheerimise täpsusest. Valmistage buffy coat, tsentrifuugides täisvere proove, mis sisaldavad standardset antikoagulant (EDTA, tsitraat või hepariin), 10 minutit toatemperatuuril (15–25 °C) 900–1100 x g juures. Pärast tsentrifuugimist on võimalik eristada 3 erinevat fraktsiooni: ülemine läbipaistev kiht on plasma, keskmine kiht on kontseentreeritud leukotsüüte sisaldab buffy coat ja alumine kiht sisaldab kontseentreeritud erütrotsüüte. 10 ml tsentrifuugitud täisverest tuleks eraldada 1 ml leukotsüüte sisaldav fraktsioon, mis annab keskmisest 5–6-kordse rikastuse. Näiteks annab leukotsüütide kogu arvuga  $6 \times 10^6$  rakku/ml 10 ml täisverd 1 ml buffy coat'i. Eeldades, et tegu on 5-kordselt rikastatud leukotsüütidega, annab see  $3 \times 10^7$  rakku/ml. Seetõttu kasutatakse 200 µl buffy coat'iga protokollis  $6 \times 10^6$  rakku.

DNA puhastamise protseduuri ülelaadimise vältimiseks ärge valmistage buffy coat'i proove, mis on > 10-kordse rikastusega. Kui buffy coat on > 10-kordse rikastusega, lahjendage proove PBS-ga kuni 10-kordse rikastuseni või kasutage DNA puhastamise protseduuris vähem lähtematerjali.

Buffy coat'i proove võib kasutada kohe või säilitada hilisemaks DNA puhastamiseks temperatuuril –20 °C või –70 °C. Külmutatud proovid tuleks sulatada kiiresti 37 °C veevannis kergelt loksutades, et tagada korralik segamine ja seejärel tasakaalustada toatemperatuuril (15–25 °C) enne protseduuri alustamist. Kindlaks proovi ülekandmiseks vältige proovikatsutites vahu tekkimist. Proovides verehüüvete vältimiseks kandke vajadusel ilma hüübета proov uude katsutisse.

## Muudatuste ajalugu

| Dokumendi muudatuste ajalugu |  |
|------------------------------|--|
| R2 12/2017                   | QIAsymphony tarkvaraversiooni 5.0 värskendus |

Ajakohase litsentsiteabe ja tootespetsiifilised õigustest loobumised leiate asjakohasest QIAGEN® komplekti käsiraamatust või kasutusjuhendist. QIAGEN komplektide käsiraamatud ja kasutusjuhendid on saadaval veebilehel [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) või tellimisel QIAGEN tehniliselt toelt või kohalikul müügiesindajalt.

Kaubamärgid: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (QIAGEN Group). Käesolevas dokumendis kasutatud registreeritud nimetused, kaubamärgid jne loetakse seadusega kaitstuks ka juhul, kui need pole eraldi kaubamärgidena tähistatud.  
12/2017 HB-0977-S05-002 © 2017 QIAGEN. Kõik õigused kaitstud.

---

Tellimine [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Tehniline tugi [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Veebisait [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)