

December 2017

# QIASymphony<sup>®</sup> SP-protokollblad

## DNA\_Buffy\_Coat\_400\_V6\_DSP protokoll

Detta dokument är DNA\_Buffy\_Coat\_400\_V6\_DSP QIASymphony SP:s protokollblad R3, för QIASymphony DSP DNA Mini Kit, version 1.

## Allmän information

QIASymphony DSP DNA Kit är avsett för in vitro-diagnostisk.

Detta protokoll är avsett för rening av totalt genomiskt och mitokondriellt DNA från färsk eller fryst buffy-coat med användning av QIASymphony SP och QIASymphony DSP DNA Midi Kit.

|  |  |
|--|--|
| <b>Kit</b>                               | QIASymphony DSP DNA Midi Kit (kat. nr 937255)              |
| <b>Provmaterial</b>                      | Buffy-coat (antikoagulerad med EDTA, citrat eller heparin) |
| <b>Protokollnamn</b>                     | DNA_BC_400_V6_DSP  |
| <b>Förvald analyskontrolluppsättning</b> | ACS_BC_400_V6_DSP  |
| <b>Redigerbar</b>                        | Elueringsvolym: 200 µl, 400 µl                             |
| <b>Nödvändig programversion</b>          | Version 4.0 eller senare                                   |

## Lådan "Sample" (Prov)

|                          |  |
|--------------------------|--|
| <b>Provtyp</b>           | Buffy-coat (antikoagulerad med EDTA, citrat eller heparin)   |
| <b>Provvolym</b>         | Beror på vilken typ av provrör som används. Se <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> för mer information. |
| <b>Primära provrör</b>   | Ej relevant  |
| <b>Sekundära provrör</b> | Se <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> för mer information.   |
| <b>Insatser</b>          | Beror på vilken typ av provrör som används. Se <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> för mer information. |

n/a = ej relevant.

## Lådan "Reagents and Consumables" (Reagens och förbrukningsmaterial)

|                                    |   |
|------------------------------------|---|
| <b>Position A1 och/eller A2</b>    | Reagenskasset   |
| <b>Position B1</b>                 | Ej relevant   |
| <b>Spetsrackhållare 1-17</b>       | Engångsfilterspetsar, 200 µl eller 1 500 µl                             |
| <b>Hållare för enhetslådor 1-4</b> | Enhetslådor som innehåller provprepareringskassetter eller 8-stavsskydd |

n/a = ej relevant.

## Lådan "Waste" (Avfall)

|  |                                |
|--|--------------------------------|
| Hållare för enhetslådor 1–4            | Tomma enhetslådor              |
| Avfallspåshållare                      | Avfallspåse                    |
| Hållare för flaska för flytande avfall | Tom flaska för flytande avfall |

## Lådan "Eluate" (Eluat)

|   |  |
|---|--|
| Elueringsställ (vi rekommenderar att uttag 1, kylpositionen, används) | Se <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> för mer information. |
|---|--|

## Erforderliga plastartiklar

|   | En batch, 24 prover* | Två batcher, 48 prover* | Tre batcher, 72 prover* | Fyra batcher, 96 prover* |
|---|----------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| Engångs-filterspetsar, 200 µl <sup>†</sup>  | 4                    | 4                       | 4                       | 8                        |
| Engångs-filterspetsar, 1500 µl <sup>†</sup> | 110                  | 212                     | 314                     | 424                      |
| Provprepareringskassetter <sup>‡</sup>      | 18                   | 36                      | 54                      | 72                       |
| 8-stavskydd <sup>§</sup>                    | 3                    | 6                       | 9                       | 12                       |

\* Om färre än 24 prover per batch används minskas antalet engångsfilterspetsar som krävs per körning.

<sup>†</sup> Det finns 32 filterspetsar/spetsställ.

<sup>‡</sup> Antalet filterspetsar som krävs inbegriper filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenskasset.

<sup>§</sup> Det finns 28 provprepareringskassetter/enhetslåda.

<sup>¶</sup> Det finns tolv 8-stavskydd/enhetslåda.

**Obs!** Beroende på inställningarna kan antalet givna filterspetsar skilja sig från de siffror som visas på pekskärmen. Vi rekommenderar att det maximala antalet spetsar laddas.

## Elueringsvolym

Elueringsvolymen väljs på pekskärmen. Beroende på provtyp och DNA-innehåll kan den slutliga eluatvolymen variera med upp till 15 µl mindre än den valda volymen. Eftersom eluatvolymen kan variera rekommenderar vi att du kontrollerar den faktiska eluatvolymen vid användning av ett

automatiserat analysinställningssystem som inte verifierar eluatvolymen innan överföringen. Eluering i lägre volymer ökar den slutliga DNA-koncentrationen, men reducerar mängden något. Vi rekommenderar att du använder en elueringsvolym som är lämplig för den avsedda nedströmstillämpningen.

## Förberedelse av provmaterial

Använd alltid laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Mer information finns i tillämpliga säkerhetsdatablad (safety data sheets, SDS) som kan erhållas av respektive tillverkare.

### Viktigt att tänka på före start

- QIASymphony-magnetpartiklar kan samtidigt rena RNA om det finns i provet. För att minimera RNA-innehållet i provet tillsätter du RNase A till provet innan proceduren inleds. Den slutliga RNase A-koncentrationen ska vara 2 mg/ml.

### Buffy-coat

Buffy-coat är en leukocytberikad fraktion av helblod. Leukocytberikningens effektivitet beror på vilken metod som använts för att bereda buffy-coat och med vilken noggrannhet som buffy-coat-skiktet extraheras. Bered buffy-coat genom att centrifugera helblodprover som innehåller en standardantikoagulant (EDTA, citrat eller heparin) vid 900–1 100 × g i 10 minuter vid rumstemperatur (15–25 °C). Efter centrifugering kan 3 olika fraktioner urskiljas: det övre, genomskinliga skiktet är plasma, mellanskiktet är buffy-coat som innehåller koncentrerade leukocyter, och bottenskiktet innehåller koncentrerade erythrocyter. Cirka 1 ml fraktion med leukocyter ska skördas från 10 ml centrifugerat helblod, vilket i genomsnitt ger en berikning på 5–6 gånger. Exempelvis resulterar 10 ml helblod med ett antal vita blodceller på  $6 \times 10^6$  celler/ml i 1 ml buffy-coat. Förutsatt en 5 gångers berikning av vita blodceller leder detta till  $3 \times 10^7$  celler/ml. I ett protokoll där man använder 400 µl buffy-coat kommer därför  $1,2 \times 10^7$  celler att användas.

För att undvika att överbelasta DNA-reningsproceduren ska du inte bereda buffy-coat-prover med en berikning på >10 gånger. Om buffy-coat-prover har en berikning på >10 gånger späder du proven till en berikning på 10 gånger eller mindre med PBS eller använder mindre startmaterial i DNA-reningsproceduren.

Buffy-coat-prover kan användas omedelbart eller förvaras vid –20 °C eller –70 °C för rening av DNA vid ett senare tillfälle. Frysta prover ska tinas snabbt i ett vattenbad på 37 °C med lätt omrörning för att säkerställa en noggrann blandning och därefter utjämnas till rumstemperatur (15–

---

25 °C) innan proceduren inleds. För att säkerställa en pålitlig provöverföring bör skumbildning i provrören undvikas. Försök att undvika blodklumpar i proven och överför vid behov provet utan klumpar till ett nytt rör.

## Revisionshistorik

| Dokumentrevisjoner |  |
|--------------------|--|
| R3 12/2017         | Uppdatering för QIAsymphony Software version 5.0 |

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i handboken eller bruksanvisningen för respektive QIAGEN®-kit. Handböcker och bruksanvisningar till QIAGEN-kit finns på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan beställas från QIAGENS tekniska support eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (QIAGEN-gruppen). Registrerade namn, varumärken etc. som används i det här dokumentet ska inte anses som oskyddade enligt lag även om de inte uttryckligen anges som skyddade.  
12/2017 HB-0977-S06-003 © 2017 QIAGEN, med ensamrätt.

---

Beställning [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Teknisk support [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Webbplats [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)