

QIASymphony SP protokollark

DNA_Buffy_Coat_200_V7_DSP-protokoll

Generell informasjon

Til in vitro-diagnostisk bruk.

Denne protokollen brukes til rensing av totalt genomisk og mitokondrielt DNA fra frisk eller frossen buffy coat ved bruk av QIASymphony® SP og QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

Sett	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (kat.nr. 937236)
Prøvemateriale	Buffy coat (EDTA, sitrat eller heparin, antikoagulert)
Protokollnavn	DNA_BC_200_V7_DSP
Standard analysekontrollsett	ACS_BC_200_V7_DSP
Redigerbar	Eluasjonsvolum: 200 µl, 300 µl, 400 µl
Nødvendig programvareversjon	Versjon 4.0

September 2012



Sample & Assay Technologies

“Sample”-skuffen (prøve)

Prøvetype	Buffy coat (EDTA, sitrat eller heparin, antikoagulert)
Prøvevolum	Avhenger av type prøverør som brukes. Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks for mer informasjon.
Primære prøverør	Ikke relevant
Sekundære prøverør	Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks for mer informasjon.
Innlegg	Avhenger av type prøverør som brukes. Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks for mer informasjon.

n/a = ikke relevant.

“Reagents and Consumables”-skuffen (reagenser og forbruksvarer)

Posisjon A1 og/eller A2	Reagenspatron
Posisjon B1	Ikke relevant
Spisstativholder 1–17	Engangsfilterspisser, 200 µl eller 1500 µl
Enhetsboksholder 1–4	Enhetsbokser inneholder prøveklargjøringspatroner eller 8-stangdeksler

n/a = ikke relevant.

“Waste”-skuff (avfall)

Enhetsboksholder 1–4	Tomme enhetsbokser
Avfallsposeholder	Avfallspose
Holder for væskeavfallsflaske	Tøm væskeavfallsflasken

“Eluate”-skuff (eluat)

Elusjonsstativ (vi anbefaler bruk av åpning 1, nedkjølingsposisjon) Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks for mer informasjon.

Nødvendige plastdeler

		En omgang, 24 prøver*	To omganger, 48 prøver*	Tre omganger, 72 prøver*	Fire omganger, 96 prøver*
Filterspisser engangsbruk, 200 µl ^{†‡}	til	2	2	2	2
Filterspisser engangsbruk, 1500 µl ^{†‡}	til	110	212	314	416
Prøveklargjøringspatroner [§]		18	36	54	72
8-stangdeksler [¶]		3	6	9	12

* Bruk av mindre enn 24 prøver per omgang reduserer antall filterspisser til engangsbruk som kreves per kjøring.

† Det finnes 32 filterspisser/spisstativ.

‡ Antall nødvendige filterspisser inkluderer filterspisser for 1 inventarskanning per reagenspatron.

§ Det finnes 28 prøveklargjøringspatroner/enhetsboks.

¶ Det finnes tolv 8-stangdeksler/enhetsboks.

Merk: Antall filterspisser som gis, kan være forskjellig fra det antallet som vises på berøringsskjermen, avhengig av innstillingene. Vi anbefaler å laste maksimalt antall mulig spisser.

Elusjonsvolum

Elusjonsvolumet velges på berøringsskjermen. Avhengig av prøvetype og DNA-innhold kan endelig eluatvolum variere med inntil 15 µl mindre enn valgt volum. Fordi eluatvolumet kan variere, anbefaler vi å kontrollere det faktiske eluatvolumet ved bruk av et automatisk analyseoppsettssystem som ikke verifiserer eluatvolumet før overføringen. Elusjon i lavere volum øker den endelige DNA-konsentrasjonen, men reduserer ytelsen noe. Vi anbefaler å bruke et elusjonsvolum som passer for den beregnede nedstrømsapplikasjonen.

Klargjøring av prøvematerialer

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Du finner mer informasjon på det aktuelle sikkerhetsdatabladet (SDS) som fås fra leverandøren av produktet.

Viktige poeng før du starter

- QIASymphony magnetpartikler kan også rense RNA hvis de er til stede i prøven. Tilsett RNase A til prøven før prosedyren startes for å minimere RNA-innholdet. Endelig RNase A-konsentrasjon skal være 2 mg/ml.

Buffy coat

Buffy coat er en leukocytberiket fraksjon av fullblod. Effektiviteten til leukocytberikning er avhengig av prosedyren som brukes for å klargjøre buffy coat og med hvilken nøyaktighet buffy coat-laget blir ekstrahert. Klargjør buffy coat ved å sentrifugere fullblodsprøver som inneholder en standard antikoagulant (EDTA, sitrat eller heparin) ved 900–1100 x g i 10 minutter ved romtemperatur (15–25 °C). Etter sentrifugering kan 3 forskjellige fraksjoner skilles ut: øvre klare lag er plasma, midtre lag er buffy coat som inneholder konsentrerte leukocytter og nedre lag inneholder konsentrerte erytrocytter. Omtrent 1 ml leukocytfraksjon høstes fra 10 ml sentrifugert fullblod som i gjennomsnitt gir en 5–6x-berikning. For eksempel gir 10 ml fullblod et antall hvite blodceller på 6×10^6 celler/ml, 1 ml buffy coat. Antar man en 5x berikning av hvite blodceller fører dette til 3×10^7 celler/ml. I en protokoll som bruker 200 μ l buffy coat, vil derfor 6×10^6 celler brukes.

For å unngå overbelastning av DNA-rensprosedyren bør man ikke tillage buffy coatprøver på >10x berikning. Hvis buffy coat-prøver er beriket >10x, fortynnes prøvene til 10x berikning eller mindre med PBS eller bruk mindre startmateriale i DNA-rensprosedyren.

Buffy coat-prøver kan brukes umiddelbart eller oppbevares ved –20 °C eller –70 °C for rensing av DNA senere. Frosne prøver bør tines raskt i vannbad på 37 °C ved forsiktig risting for å sikre grundig blanding og så bringes til romtemperatur (15–25 °C) før prosedyren starter. Unngå at det dannes skum i prøverørene. Da sikrer du pålitelig prøveoverføring. Forsøk å unngå koagler i prøvene og overfør om nødvendig prøven uten koagler til et nytt rør.

For oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, se håndboken eller brukerhåndboken for det aktuelle QIAGEN-settet. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN-settene er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan fås fra QIAGENS tekniske service eller din lokale leverandør.

Varemerker: QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Registrerte navn, varmerker osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke betraktes som ubeskyttet av lov, selv om de ikke spesifikt er merket som dette.

© 2012 QIAGEN, alle rettigheter forbeholdt.

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