

Dicembre 2017

Scheda del protocollo QIASymphony[®] SP

Protocollo DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP

Questo documento è la *scheda del protocollo* QIASymphony SP DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP, revisione 3, per QIASymphony DSP DNA Mini Kit, versione 1.

Informazioni generali

Il kit QIASymphony DSP DNA è studiato per l'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 QIASymphony SP e il QIASymphony DSP DNA Midi Kit.

| | |
|--|--|
| Kit | QIASymphony DSP DNA Midi Kit (cat. n. 937255) |
| Materiale campione | 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 o superiore |

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 | non pertinente |
| Provette per campioni secondarie | Per maggiori informazioni consultare www.qiagen.com/goto/dsphandbooks . |
| Inserti | Dipende 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 reagente |
| Posizione B1 | non pertinente |
| Supporto per rack per puntali 1-17 | Puntali con filtro monouso, 200 µl o 1500 µl |
| 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 su ogni rack per puntali.

‡ 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

Quando si opera con sostanze chimiche, indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per maggiori informazioni, consultare le schede dei dati di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) disponibili presso il fornitore.

Punti importanti prima di iniziare

- Le particelle magnetiche QIASymphony 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.

Cronologia delle revisioni

| | |
|--------------------------------------|--|
| Documento cronologia delle revisioni | |
| R3 12/2017 | Aggiornamento per la versione 5.0 del software QIASymphony |

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

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (Gruppo QIAGEN). I marchi registrati, i marchi di fabbrica ecc. utilizzati in questo documento, anche se non indicati in modo specifico come tali, non devono essere considerati non protetti dalla legge.
12/2017 HB-0977-S06-003 © 2017 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

Ordini www.qiagen.com/shop | Assistenza tecnica support.qiagen.com | Sito web www.qiagen.com