

QIASymphony SP-protokollblad

DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP-protokoll

Allmän information

För in vitro-diagnostisk användning.

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.

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

September 2012



Sample & Assay Technologies

Lådan "Sample" (prov)

Provtyp	Buffy-coat (antikoagulerad med EDTA, citrat eller heparin)
Provolym	Beror på vilken typ av provrör som används. Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks för mer information.
Primära provrör	Ej relevant
Sekundära provrör	Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks för mer information.
Insatser	Beror på vilken typ av provrör som används. Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks för mer information.

n/a = ej relevant.

Lådan "Reagents and Consumables" (reagens och förbrukningsmaterial)

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

n/a = ej relevant.

Lådan "Waste" (avfall)

Hållare för enhetslådor 1-4	Tomma enhetsaskar
Avfallspåshållare	Avfallspåse
Flaskhållare för flytande avfall	Tom flaska för flytande avfall

Lådan "Eluate" (eluat)

Elueringsställ (vi rekommenderar att uttag 1, kylpositionen, används)

Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks 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 ^{††}	4	4	4	8
Engångs- filterspetsar, 1 500 µl ^{††}	110	212	314	424
Provprepareringskassetter [§]	18	36	54	72
8-stavsskydd [¶]	3	6	9	12

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

† Det finns 32 filterspetsar/spetsställ.

† Antalet filterspetsar som krävs inbegriper filterspetsar för 1 inventerande skanning per reagenskasset.

§ Det finns 28 provprepareringskassetter/enhetslåda.

¶ Det finns tolv 8-stavsskydd/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 lämplig laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Om du vill ha mer information hänvisas till tillämpliga säkerhetsdatablad (SDS) som kan erhållas från produktleverantören.

Viktigt moment 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 x 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 6×10^6 celler/ml i 1 ml buffy-coat. Förutsatt en 5 gångers berikning av vita blodceller leder detta till 3×10^7 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.

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler: se respektive QIAGEN-sats-handbok eller användarhandbok. Handböcker och användarhandböcker för QIAGEN-satser finns på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGENS tekniska support eller från lokal distributör.

Varumärken: QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN-gruppen). Registrerade namn, varumärken osv. som används i detta dokument, även när de inte uttryckligen har markerats som sådana, får inte betraktas som oskyddade i lag.

© 2012 QIAGEN, med ensamrätt.

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