

August 2015

QIAsymphony® DSP DNA Gebrauchsanweisung (Handbuch)



192 (Kat-Nr. 937236)



96 (Kat-Nr. 937255)

Version 1



Für in-vitro-diagnostische Anwendungen

QIAsymphony DSP DNA Mini Kit

QIAsymphony DSP DNA Midi Kit



937236, 937255



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden GERMANY



1069185DE

Inhalt

Vorgesehener Verwendungszweck.....	3
Summary and Explanation	3
Principles of the Procedure	4
Mit dem Kit gelieferte Materialien	7
Kit-Inhalt	7
Vom Anwender bereitzustellende Ausrüstung und Reagenzien	8
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	9
Lagerung und Handhabung der Reagenzien	12
Kitkomponenten	13
Abnahme und Vorbereitung der Proben.....	14
Wichtige Hinweise zur Laufvorbereitung.....	14
Automatisierte Reinigung mit dem QIASymphony SP	14
Protokoll: Reinigung von DNA	23
Qualitätskontrolle.....	27
Anwendungseinschränkungen	27
Symbole	28
Hilfe zur Fehlersuche	30
Anhang: Bestimmung von Konzentration, Ausbeute und Reinheit der DNA	33
Bestimmung von Konzentration und Ausbeute an DNA	33
Reinheit der DNA	34

Bestellinformationen	35
----------------------------	----

Vorgesehener Verwendungszweck

Der QIASymphony DSP DNA Mini Kit und der QIASymphony DSP DNA Midi Kit basieren auf der Magnet-Partikel-Technologie für die automatisierte Isolierung und Reinigung von DNA aus biologischen Proben.

Die Produkte sollten nur von Sachkundigen, wie z. B. technischen Angestellten oder Ärzten, die in der Anwendung molekularbiologischer Methoden geschult sind, verwendet werden.

Das QIASymphony DSP DNA System ist für in-vitro-diagnostischen Gebrauch vorgesehen.

Summary and Explanation

Die QIASymphony DSP DNA Kits sind ausschließlich für den Gebrauch in Kombination mit dem QIASymphony SP vorgesehen. Die QIASymphony DSP DNA Kits enthalten die Reagenzien für die vollautomatische und simultane Reinigung von Gesamt-DNA aus humanem Vollblut, Buffy Coat, Gewebe- oder FFPE-Gewebeproben sowie von viraler DNA aus humanem Vollblut. Allerdings wurde nicht für jedes Virus bzw. jede Art von Gewebe oder FFPE-Gewebeprobe eine Leistungscharakteristik erstellt; sie ist vielmehr vom Anwender zu validieren. Der Einsatz der Magnet-Partikel ermöglicht die Reinigung qualitativ hochwertiger Nukleinsäuren, die frei von Proteinen, Nukleasen und anderen Kontaminationen oder Inhibitoren sind. Die gereinigten Nukleinsäuren können direkt in anschließenden durchgeführten Applikationen, wie z. B. Amplifikations- oder anderen enzymatischen Reaktionen, verwendet werden. Der QIASymphony SP führt alle Schritte des Reinigungsprotokolls durch. Bis zu 96 Proben, jeweils in Chargen zu 24 Stück, können in einem Lauf verarbeitet werden. Bei den Protokollen für Gewebe- und FFPE-Gewebeproben ist eine manuelle Vorbehandlung der Proben erforderlich.

Principles of the Procedure

Die QIASymphony Technologie kombiniert die Schnelligkeit und Effizienz der Silica-basierten Nukleinsäure-Reinigung mit dem komfortablen Handling von magnetischen Partikeln (siehe Abbildung 1 unten). Dieses Verfahren wurde entwickelt, um die sichere und reproduzierbare Handhabung von potenziell infektiösen Proben zu gewährleisten. Die Reinigungsmethode besteht aus den folgenden vier Schritten: Lysieren, Binden, Waschen und Eluieren (siehe Flussdiagramm auf Seite 6). Der Anwender kann zwischen verschiedenen Elutionsvolumina wählen.

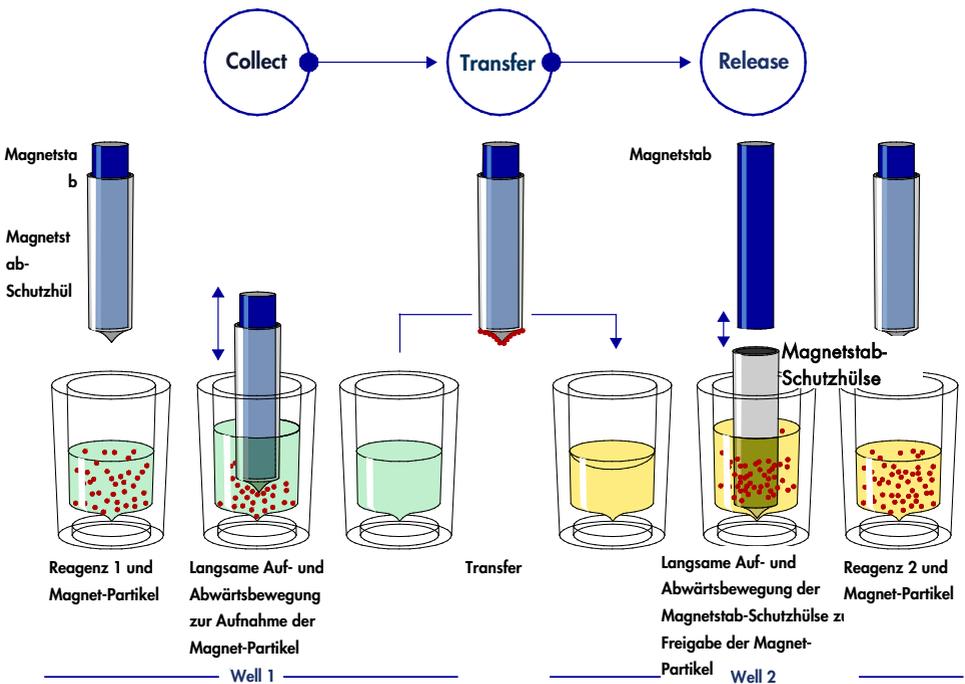
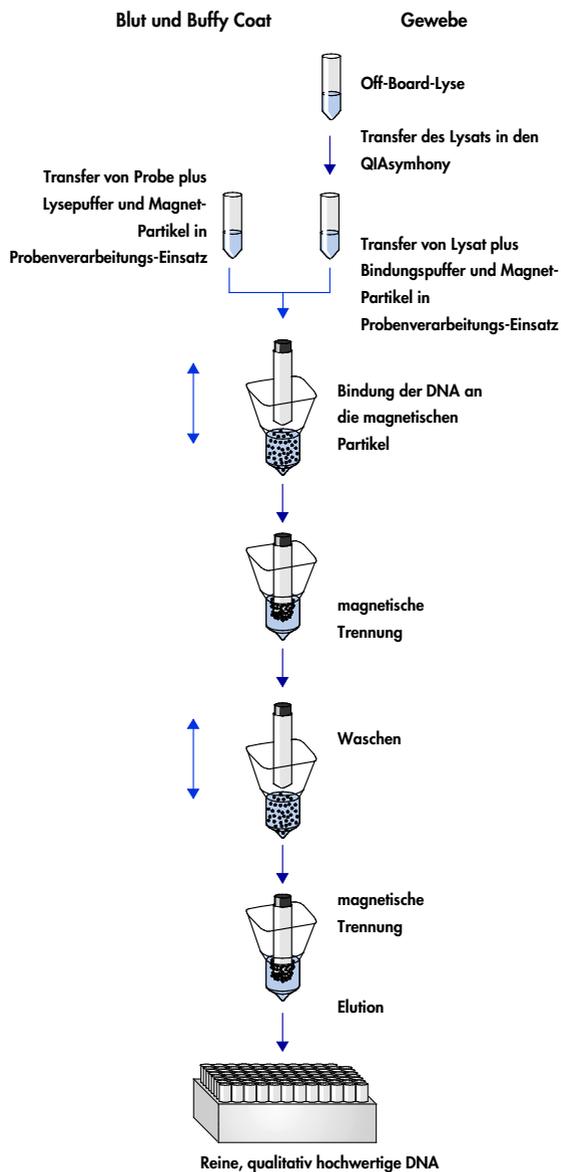


Abbildung 1. Schematische Darstellung des QIASymphony SP Prinzips. Eine Probe, die Magnet-Partikel enthält, wird wie folgt vom QIASymphony SP verarbeitet: Ein Magnetstab, der von einer Schutzhülse umgeben ist, fährt in ein Well,

in dem sich die Probe befindet, und zieht die Magnet-Partikel an. Der Magnetstab wird mit Schutzhülse über einem anderen Well positioniert und die Magnet-Partikel werden freigegeben. Der QIASymphony SP hat einen Magnetkopf, der eine Anordnung von 24 Magnetstäben aufweist und daher bis zu 24 Proben gleichzeitig verarbeiten kann. Während der Probenverarbeitung werden die Schritte 1 und 2 mehrere Male wiederholt.

Das QIASymphony DSP DNA-



Mit dem Kit gelieferte Materialien

Kit-Inhalt

QIASymphony DSP DNA Kit		Mini	Midi	
Katalog-Nr.		937236	937255	
Anzahl Präparationen		192	96*	
RC	Reagent Cartridge (Reagenzienkartusche) [†]	REAG CART [‡]	2	2
ER	Enzyme Rack (Enzym-Rack)		2	2
PL	Piercing Lid (Durchstech-Platte)		2	2
ATE	Buffer ATE (Puffer ATE) (20 ml) [†]	ELU BUF [‡]	20 ml	20 ml
RSS	Reuse Seal Set (Satz wieder verwendbarer Dichtungen) [§]		2	2
	Handbook (Handbuch)		1	1

* Für 96 Präparationen à 1000 µl oder 144 Präparationen à 400 µl.

† Enthält Guanidinsalze. Nicht mit Desinfektionsmitteln in Kontakt bringen, die Chlorbleiche (Natriumhypochlorit, NaOCl) enthalten. Auf Seite 9 finden Sie weitere Sicherheitshinweise.

‡ Enthält Natriumazid als Konservierungsmittel.

§ Ein Satz wiederverwendbarer Dichtungen enthält acht Dichtungsstreifen.

[¶] Siehe Symbolliste mit Definitionen auf Seite **Fehler! Textmarke nicht definiert.**

Vom Anwender bereitzustellende Ausrüstung und Reagenzien

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Schutzhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheits-Datenblättern (Safety Data Sheets, SDSs) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

- QIAasymphony SP
- Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (Probenverarbeitungs-Einsätze, 8-Well-Einsätze) (Kat.-Nr. 997002)
- 8-Rod Covers (8-Magnetstab-Schutzhülsen) (Kat.-Nr. 997004)
- Filter-Tips (Filter-Pipettenspitzen), 200 µl und 1500 µl (Kat.-Nr. 990332 und 997024)
- Probengefäße (z. B. 2-ml-Probenröhrchen mit Schraubdeckel der Fa. Sarstedt, Kat.-Nr. 72.693, oder ohne Deckel, Fa. Sarstedt Kat.-Nr. 72.608 oder Kat.-Nr. 72.694). Eine Liste der kompatiblen Primär- und Sekundär-Röhrchenformate finden Sie unter www.qiagen.com/goto/dspdnakits.
- Elutionsgefäße oder -platten. Eine Liste der kompatiblen Röhrchen und Plattenformate für die Elution finden Sie unter www.qiagen.com/goto/dspdnakits.
- Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS; wird ggf. zum Verdünnen der Proben benötigt)
- Laborschüttler (Vortexer)
- Optional: DNase-freie RNase A (zur Minimierung des RNA-Gehalts)
- Angaben zu weiteren Materialien, die für die Verarbeitung von Gewebeproben und die Isolierung von Virus-DNA aus Blutproben benötigt werden, finden Sie in den jeweiligen Protokollblättern unter www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Für in-vitro-diagnostische Anwendungen

Lesen Sie alle Anweisungen vor Verwendung des Kits genau durch.

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Schutzhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheits-Datenblättern entnehmen (Safety Data Sheets, SDSs). In unserer Online-Sammlung der Materialsicherheits-Datenblätter unter www.qiagen.com/safety finden Sie zu jedem QIAGEN® Kit und zu jeder Kit-Komponente das jeweilige SDS als PDF-Datei, die Sie einsehen und ausdrucken können.



WARNUNG: GEBEN SIE KEINE Chlorbleiche oder saure Lösungen direkt in den Flüssigabfall, der während der Probenverarbeitung anfällt.

Einige der Pufferlösungen in den Reagenzienkartuschen (RC) enthalten Guanidinsalze, die hoch reaktive Verbindungen bilden können, wenn sie mit Chlorbleiche zusammengebracht werden. Wenn eine Flüssigkeit, die einen oder mehrere dieser Puffer enthält, verschüttet wird, reinigen Sie die betroffenen Flächen mit einem geeigneten Labordetergens und Wasser. Enthält die verschüttete Flüssigkeit potenziell infektiöse Agenzien, reinigen Sie die Fläche zuerst mit Detergens und Wasser, danach mit 1 % (v/v) Natriumhypochlorit.

Die folgenden Gefahren- und Sicherheitshinweise gelten für einzelne Komponenten des QIASymphony DSP DNA Kits:

QSB1



Enthält: Brij 58; guanidine thiocyanate; Isopropanol. Gefahr! Kann bei Verschlucken oder Hautkontakt gesundheitsschädlich sein. Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden. Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen. Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar. Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase. Inhalt/ Behälter einer anerkannten Abfallentsorgungsanlage zuführen. BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle beschmutzten, getränkten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/ duschen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. Von Hitze/Funken/offener Flamme/heißen Oberflächen fernhalten. Nicht rauchen. Behälter dicht verschlossen an einem gut belüfteten Ort aufbewahren. Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen.

MBS

Achtung! Verursacht milde Hautreizungen. Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen/ ärztliche Hilfe hinzuziehen.

Proteinase K



Enthält: Proteinase K. Gefahr! Verursacht milde Hautreizungen. Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen. Einatmen von Staub/ Rauch/ Gas/ Nebel/ Dampf/ Aerosol vermeiden. Inhalt/ Behälter einer anerkannten Abfallentsorgungsanlage zuführen. Bei Symptomen der Atemwege: GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. BEI EINATMEN: Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. Atemschutz tragen.

QSL1



Enthält: guanidine hydrochloride; maleic acid. Achtung! Kann bei Verschlucken oder Einatmen gesundheitsschädlich sein. Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenreizung. Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ ärztliche Hilfe hinzuziehen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen

QSW1



Enthält: ethanol; guanidine hydrochloride; lithium chloride. Achtung! Kann beim Verschlucken schädlich sein. Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenreizung. Flüssigkeit und Dampf entzündbar. Inhalt/ Behälter einer anerkannten Abfallentsorgungsanlage zuführen. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ ärztliche Hilfe hinzuziehen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Von Hitze/Funken/offener Flamme/heißen Oberflächen fernhalten. Nicht rauchen. Kühl an einem gut belüfteten Ort aufbewahren. Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen.

QSW2



Enthält: ethanol. Gefahr! Verursacht schwere Augenreizung. Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar. Inhalt/ Behälter einer anerkannten Abfallentsorgungsanlage zuführen. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ ärztliche Hilfe hinzuziehen. Von Hitze/Funken/offener Flamme/heißen Oberflächen fernhalten. Nicht rauchen. Kühl an einem gut belüfteten Ort aufbewahren. Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen.

Lagerung und Handhabung der Reagenzien

Lagern Sie die QIASymphony DSP DNA Kits aufrecht stehend bei Raumtemperatur (15–25 °C). Die magnetischen Partikel in den Reagenzienkartuschen (RC) behalten bei dieser Temperatur ihre Aktivität. Bei ordnungsgemäßer Lagerung unter diesen Bedingungen sind die Kits bis zum Haltbarkeitsdatum, das auf der Kit-Verpackung angegeben ist, haltbar.

Hinweis: Auf dem Etikett der QIAsymphony DSP DNA Kit-Verpackung ist das Haltbarkeitsdatum des Kits angegeben. In der Ergebnisdatei wird lediglich das Haltbarkeitsdatum der Reagenzienkartusche (RC) dokumentiert.

Kitkomponenten

QIAsymphony DSP DNA Kits enthalten eine gebrauchsfertige Proteinase-K-Lösung, die bei Raumtemperatur gelagert werden kann.

Lagern Sie die Reagenzienkartuschen (RC) nicht bei Temperaturen unter 15 °C.

Wenn Reagenzienkartuschen (RC) nach einem Lauf noch Reagenzien enthalten, können sie für maximal vier Wochen aufbewahrt werden, sodass eine kosteneffiziente Wiederverwendung der Reagenzien und eine flexiblere Probenverarbeitung möglich ist. Falls eine Reagenzienkartusche (RC) nur teilweise aufgebraucht wurde, setzen Sie unmittelbar nach dem Protokolllauf den Deckel wieder auf den Trog mit den Magnet-Partikeln und verschließen Sie die Reagenzienkartusche mit den wiederverwendbaren Dichtungstreifen (im Kit enthalten), um Verdunstung zu vermeiden.

Um ein Verdunsten der Reagenzien zu vermeiden, sollte die Reagenzienkartusche (RC) bei einer Umgebungstemperatur von 30 °C höchstens 15 Stunden lang offen sein (inklusive Laufzeiten).

Wenn Läufe mit einer geringen Anzahl Proben (< 24) durchgeführt werden, erhöhen sich dadurch die Zeit, in der die Reagenzienkartusche geöffnet ist, und die benötigten Puffervolumina. Dadurch reduziert sich eventuell die Gesamtzahl der Präparationen, die mit einer Kartusche möglich sind.

Vermeiden Sie es, die Reagenzienkartuschen (RC) mit UV-Licht zu bestrahlen (z. B. mit einer UV-Dekontaminationslampe), da die Bestrahlung ein beschleunigtes „Altern“ der Reagenzienkartuschen und Puffer verursachen könnte.

Abnahme und Vorbereitung der Proben

Vermeiden Sie Schaumbildung in oder auf den Proben. Je nach Ausgangsmaterial kann eine Vorbehandlung der Probe erforderlich sein.

Die Proben sollten vor Beginn des Protokolllaufs auf Raumtemperatur (15–25 °C) äquilibriert sein.

Weitere Informationen über das automatisierte Verfahren (inklusive Angaben zu den Probenröhrchen, die bei einzelnen Protokollen verwendet werden können) und spezifische Probenvorbehandlungen finden Sie in dem zugehörigen Protokollblatt, das unter www.qiagen.com/goto/dspdnakits verfügbar ist

Wichtige Hinweise zur Laufvorbereitung

Automatisierte Reinigung mit dem QIASymphony SP

Mit dem QIASymphony SP ist die automatisierte Probenverarbeitung leicht und praktisch. Proben, Reagenzien und Verbrauchsartikel sowie die Nukleinsäure-Eluat befinden sich getrennt in verschiedenen Schubladen. Sie stellen die Proben sowie Reagenzien (in speziellen Kartuschen) und Verbrauchsartikel (in Racks) vor einem Lauf einfach in die entsprechende Schublade. Dann starten Sie den Protokolllauf und nach der Probenverarbeitung entnehmen Sie die gereinigte DNA aus der „Eluat“-Schublade. Weitere Bedienungsanweisungen finden Sie in den Handbüchern zu Ihrem Gerät.

Hinweis: Optionale Wartungsarbeiten sind für die Funktion des Geräts zwar nicht zwingend erforderlich, sie werden jedoch empfohlen, um das Kontaminationsrisiko zu reduzieren.

Das Sortiment der verfügbaren Protokolle wird kontinuierlich erweitert; zusätzliche QIAGEN Protokolle können kostenfrei unter www.qiagen.com/goto/dspdnakits heruntergeladen werden.

Hineinstellen der Reagenzienkartuschen (RC) in die „Reagenzien und Verbrauchsartikel“-Schublade

Die Reagenzien für die DNA-Reinigung befinden sich in der innovativen Reagenzienkartusche (RC) (siehe Abbildung 2). Jeder Trog der Reagenzienkartusche enthält ein bestimmtes Reagenz, beispielsweise die Magnet-Partikel, Lysepuffer, Waschpuffer oder Elutionspuffer. Nur teilweise aufgebrauchte Reagenzienkartuschen können mit den wiederverwendbaren Dichtungsstreifen für eine spätere Verwendung verschlossen werden, sodass nichts verschwendet wird und am Ende des Reinigungsprotokolls kein zusätzlicher Abfall durch übrig gebliebene Reagenzien entsteht.

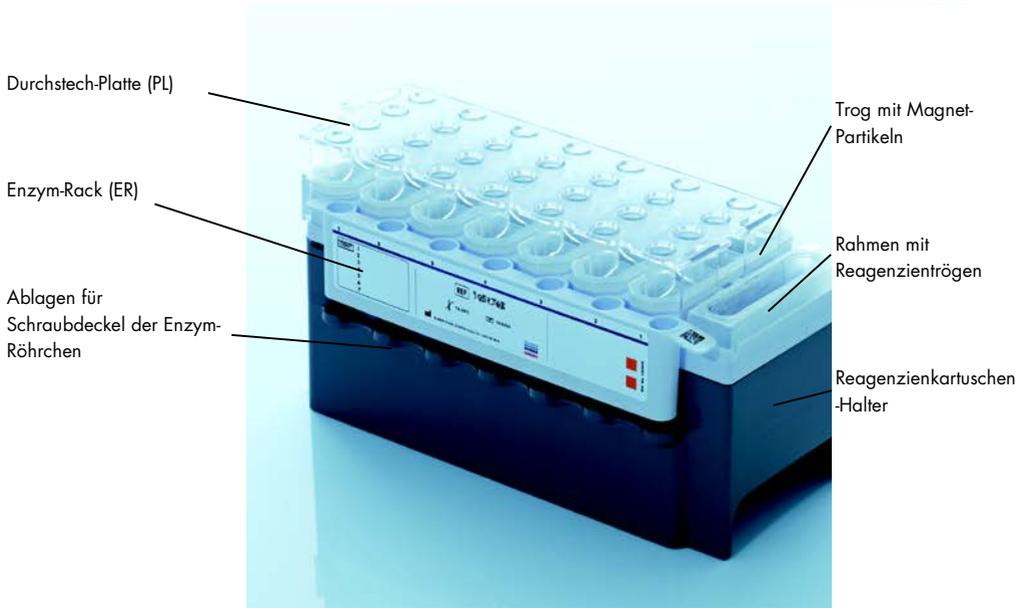


Abbildung 2. QIAasympy Reagenzienkartusche (RC). Die Reagenzienkartusche enthält alle Reagenzien, die für den Protokolllauf benötigt werden.

Vergewissern Sie sich vor Start des Protokolllaufs, dass die Magnet-Partikel vollständig resuspendiert sind. Entnehmen Sie den Trog mit den Magnet-Partikeln aus dem Reagenzienkartuschen-Rahmen, schütteln Sie ihn gründlich, für mindestens 3 Minuten auf einem Vortex-Schüttler, und setzen Sie ihn unmittelbar vor erstem Gebrauch wieder in den Rahmen der Reagenzienkartusche. Stellen Sie die Reagenzienkartusche in den Reagenzienkartuschen-Halter. Stellen Sie das leere Enzym-Rack (ER) in den Reagenzienkartuschen-Halter. Setzen Sie eine Durchstech-Platte (PL) oben auf die Reagenzienkartusche, bevor Sie sie zum ersten Mal verwenden (siehe Abbildung2, oben).

Hinweis: Die Spitzen der Durchstech-Platte (PL) sind scharf. Seien Sie vorsichtig, wenn Sie die Platte auf die Reagenzienkartusche (RC) setzen. Achten Sie dabei auch auf die richtige Orientierung der Durchstech-Platte.

Nach Abnehmen des Deckels vom Magnet-Partikel-Trog und Öffnen der Röhrcen des Enzym-Racks (die Schraubdeckel können auf die dafür vorgesehenen Ablageflächen gelegt werden; siehe oben, Abbildung 2), wird die Reagenzienkartusche in die „Reagenzien und Verbrauchsartikel“-Schublade („Reagents and Consumables“) gestellt.

Nur teilweise aufgebrauchte Reagenzienkartuschen können bis zur nächsten Verwendung aufbewahrt werden, siehe den Abschnitt „Lagerung und Handhabung der Reagenzien“ auf Seite 12.

Bestücken der „Reagenzien und Verbrauchsartikel“-Schublade mit Kunststoff-Verbrauchsartikeln

Probenverarbeitungs-Einsätze, 8-Magnetstab-Schutzhülsen (beides vorgepackt in Kunststoff-Containern) und Einmal-Filterpipettenspitzen (200- μ l-Spitzen in blauen Racks, 1500- μ l-Spitzen in grauen Racks) werden in die „Reagenzien und Verbrauchsartikel“-Schublade gestellt.

Hinweis: Stellen Sie sicher, dass die Deckel entfernt sind, bevor Sie die leeren Verbrauchsartikel-Container in die „Reagenzien und Verbrauchsartikel“-Schublade stellen.

Hinweis: Die Pipettenspitzen enthalten Filter, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.

Die Tip-Rack-Stellplätze auf der Arbeitsplattform des QIASymphony SP können mit beiden Tip-Rack-Typen bestückt werden. Der QIASymphony SP erkennt den Typ der geladenen Pipettenspitzen während des Inventar-Scans.

Hinweis: Füllen Sie Tip-Racks oder Verbrauchsartikel-Container für Probenverarbeitungs-Einsätze oder 8-Magnetstab-Schutzhülsen vor dem Start eines weiteren Protokolllaufs nicht wieder auf. Der QIASymphony SP kann teilweise geleerte Tip-Racks und Verbrauchsartikel-Container verwenden.

Informationen über die benötigten Verbrauchsartikel finden Sie im entsprechenden Protokollblatt unter www.qiagen.com/goto/dspdnakits. Bestellinformationen für Kunststoff-Verbrauchsartikel siehe Seite 35.

Bestücken der „Abfall“-Schublade

Während eines Laufs verbrauchte Probenverarbeitungs-Einsätze und 8-Magnetstab-Schutzhülsen werden in Racks in leeren Containern in der „Abfall“-Schublade (“Waste”) abgesetzt. Stellen Sie sicher, dass die „Abfall“-Schublade mit genügend leeren Containern für Kunststoffabfälle, die während des Protokolllaufs anfallen, bestückt ist.

Hinweis: Stellen Sie sicher, dass die Deckel entfernt sind, bevor Sie die leeren Verbrauchsartikel-Container in die „Abfall“-Schublade stellen. Falls Sie Container für 8-Magnetstab-Schutzhülsen verwenden, um verbrauchte Probenverarbeitungs-Einsätze und 8-Magnetstab-Schutzhülsen aufzunehmen, vergewissern Sie sich, dass die Abstandshalter aus den Containern entfernt sind.

An der Vorderseite der „Abfall“-Schublade muss ein Abfallbeutel für gebrauchte Filter-Pipettenspitzen angebracht sein.

Hinweis: Das System prüft nicht, ob ein Pipettenspitzen-Abfallbeutel vorhanden ist. Stellen Sie sicher, dass der Pipettenspitzen-Abfallbeutel ordnungsgemäß angebracht ist, bevor Sie einen Protokolllauf starten. Weitere Informationen finden Sie in den Handbüchern zu Ihrem Gerät. Leeren Sie den Pipettenspitzen-Beutel spätestens, nachdem 96 Proben verarbeitet wurden, um einen Rückstau der Spitzen zu vermeiden.

Flüssigabfall, der während der Nukleinsäure-Reinigungsprozedur entsteht, wird in einem Flüssigabfallbehälter gesammelt. Die „Abfall“-Schublade kann nur geschlossen werden, wenn der Flüssigabfallbehälter sich an seinem Platz befindet. Entsorgen Sie den Flüssigabfall entsprechend den örtlichen Sicherheits- und Umweltschutzbestimmungen. Autoklavieren Sie die volle Flüssigabfallflasche nicht. Entleeren Sie die Flüssigabfallflasche spätestens, nachdem 96 Proben verarbeitet wurden.

Bestücken der „Eluat“-Schublade

Setzen Sie das benötigte Elutions-Rack in die „Eluat“-Schublade („Eluate“). Da eine längerfristige Aufbewahrung der Eluate in der „Eluat“-Schublade zur Verdunstung von Eluat führen könnte, empfehlen wir dringend, den Kühl-Stellplatz zu benutzen: Verwenden Sie nur den „Elutions-Stellplatz 1“ mit dem zugehörigen Kühladapter.

Inventar-Scan

Vor dem Start eines Laufs prüft das Gerät, dass genügend Verbrauchsartikel für die zu verarbeitende(n) Probencharge(n) in die entsprechenden Schubladen hineingestellt wurden.

Vorbereitung des Probenmaterials

Die QIAsymphony DSP DNA Kits sind für die automatisierte Reinigung von Gesamt-DNA aus humanem Vollblut, Buffy Coat, Gewebe- und Formalin-fixierten, in Paraffin eingebetteten (FFPE-) Gewebeproben sowie von viraler DNA aus humanem Vollblut geeignet (siehe Tabelle 1 auf Seite 21).

Vermeiden Sie Schaumbildung in oder auf den Proben. Je nach Ausgangsmaterial, kann eine Vorbehandlung der Probe erforderlich sein. Die Proben sollten vor Beginn des Protokolllaufs auf Raumtemperatur (15–25 °C) äquilibriert sein. Bei den Protokollen für Gewebe- und FFPE-Gewebeproben ist eine manuelle Vorbehandlung der Proben erforderlich.

Weitere Informationen über das automatisierte Verfahren (inklusive Angaben zu den Probenröhrchen, die bei einzelnen Protokollen verwendet werden können) und spezifische

Probenvorbereitungen finden Sie in dem entsprechenden Protokollblatt, das unter www.qiagen.com/goto/dspdnakits verfügbar ist.

Yield of purified DNA

Die DNA-Ausbeuten hängen vom Probentyp, der Anzahl kernhaltiger Zellen in der Probe, der Qualität des Ausgangsmaterials und dem Protokoll ab, das für die DNA-Isolierung verwendet wird. Durch Elution in kleinere Volumina kann zwar die DNA-Endkonzentration im Eluat erhöht werden, allerdings ist dann die DNA-Ausbeute insgesamt geringer. Wir empfehlen, ein Elutionsvolumen zu verwenden, das für die vorgesehene nachfolgende Applikation geeignet ist. Mit den QIASymphony DSP DNA Kits werden RNA und DNA gemeinsam gereinigt, falls beide Nukleinsäuren in der Probe vorhanden sind. Falls eine Probe mit minimiertem RNA-Gehalt benötigt wird, geben Sie beim entsprechenden Schritt im Vorbehandlungsprotokoll RNase A zur Probe. Weitere Informationen finden Sie in den jeweiligen Protokollblättern unter www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Lagerung der DNA

Die gereinigte DNA kann bei 2–8 °C für bis zu fünf Tage aufbewahrt werden. Eine längerfristige Lagerung sollte bei –20 °C oder –80 °C erfolgen.

Table 1. Protocol overview

Probe	Probenvolumen (µl)	Elutionsvolumen (µl)	Kit	QIAasymphony SP Protokoll
Vollblut	200	50, 100, 200	Mini	Blood 200 DSP
	400	100, 200, 400	Midi	Blood 400 DSP
	1000	200, 400, 500	Midi	Blood 1000 DSP
Buffy Coat	200	200, 300, 400	Mini	DNA Buffy Coat 200 DSP
	400	200, 400	Midi	DNA Buffy Coat 400 DSP
Virushaltiges Blut	200	60, 85, 110, 165	Mini	VirusBlood200 DSP
Gewebe	200	50, 100, 200,400	Mini	Tissue LC 200 DSP
	200	100, 200, 400	Mini	Tissue HC 200 DSP

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Sie sollten mit der Bedienung des QIAasymphony SP vertraut sein. Weitere Bedienungsanweisungen finden Sie in den Handbüchern zu Ihrem Gerät.
- Optionale Wartungsarbeiten sind für die Funktion des Geräts zwar nicht zwingend erforderlich, sie werden jedoch empfohlen, um das Kontaminationsrisiko zu reduzieren.
- Lesen Sie bitte den Abschnitt „Das Prinzip der QIAasymphony DSP DNA Kits und seine Anwendung“ auf Seite **Fehler! Textmarke nicht definiert.** ff., bevor Sie mit der Durchführung beginnen.
- Machen Sie sich mit dem Inhalt des Protokollblatts zu dem Protokoll, das Sie verwenden wollen, vertraut (www.qiagen.com/goto/dspdnakits).
- Vergewissern Sie sich vor der ersten Verwendung einer Reagenzienkartusche (RC), dass in den Puffern QSL1 und QSB1 kein Präzipitat enthalten ist. Falls erforderlich, entnehmen Sie die Tröge mit den Puffern QSL1 und QSB1 aus der Reagenzienkartusche und inkubieren Sie sie unter gelegentlichem Schütteln für 30 Minuten in einem Wasserbad bei 37 °C, um das Präzipitat aufzulösen. Achten Sie darauf, die Tröge anschließend wieder in die korrekten Positionen zurückzustellen. Falls die Folie der Reagenzienkartusche bereits durchstoßen ist: Stellen Sie sicher, dass die Tröge mit wiederverwendbaren Dichtungsstreifen dicht verschlossen sind und inkubieren Sie die

komplette Reagenzienkartusche unter gelegentlichem Schütteln für 30 Minuten in einem Wasserbad bei 37 °C.

- Vermeiden Sie zu kräftiges Schütteln der Reagenzienkartusche (RC); andernfalls könnte Schaum entstehen, der zu Problemen bei der Flüssigkeitsstand-Detektion führen könnte.

Weitere wichtige Hinweise, bevor Sie mit dem Protokoll beginnen

- Vergewissern Sie sich vor Start des Protokolllaufs, dass die Magnet-Partikel vollständig resuspendiert sind. Schütteln Sie den Trog mit den Magnet-Partikeln gründlich, für mindestens 3 Minuten auf einem Vortex-Schüttler, bevor Sie ihn zum ersten Mal verwenden.
- Stellen Sie sicher, dass die Durchstech-Platte richtig auf der Reagenzienkartusche positioniert ist und der Deckel des Magnet-Partikel-Trogs entfernt ist, oder – falls Sie eine bereits gebrauchte Reagenzienkartusche verwenden –, dass die wiederverwendbaren Dichtungstreifen entfernt sind.
- Vergewissern Sie sich, dass die Enzym-Röhrchen geöffnet sind.
- Stellen Sie mit Barcode versehene Proben so in das Proben-Rack, dass die Barcodes zum Barcode-Reader (befindet sich auf der linken Seite des QIASymphony SP) weisen.
- Informationen darüber, welche Probenröhrchen bei einem bestimmten Protokoll verwendet werden können, finden Sie in der zugehörigen Liste der Verbrauchsmaterialien ("Labware Lists"), die unter www.qiagen.com/goto/dspdnakits verfügbar ist.
- Informationen über die Mindest-Probenvolumina in den Primär- und Sekundär-Röhrchen für ein bestimmtes Protokoll können Sie der zugehörigen Liste der Verbrauchsmaterialien ("Labware List") entnehmen (unter www.qiagen.com/goto/dspdnakits verfügbar). Darin ist auch angegeben, welche Röhrchen für die verschiedenen Protokolle verwendet werden können.

Protokoll: Reinigung von DNA

Bei dem folgenden Protokoll handelt es sich um ein allgemeines Protokoll zur Verwendung mit den QIASymphony DSP DNA Kits. Detaillierte Informationen zu jedem Protokoll, inklusive Angabe der Volumina und der Röhren, finden Sie in den Protokollblättern, die unter www.qiagen.com/goto/dspdnakits zum Download zur Verfügung stehen.

1. Schließen Sie alle Schubladen und die Gerätehaube.
2. Schalten Sie den QIASymphony SP ein und warten Sie, bis die Bildschirmanzeige **Sample Preparation** (Probenverarbeitung) der Software auf dem Touchscreen erscheint und die Initialisierungsprozedur abgeschlossen ist.

Der Netzschalter befindet sich unten links auf der Vorderseite des Geräts.

3. Loggen Sie sich in der Geräte-Software ein.
4. Vergewissern Sie sich, dass die „Abfall“-Schublade („Waste“) ordnungsgemäß vorbereitet ist und führen Sie einen Inventar-Scan der „Abfall“-Schublade durch, inklusive Pipettenspitzen-Rutsche und Flüssigabfall. Ersetzen Sie den Pipettenspitzen-Abfallbeutel, falls erforderlich.
5. Setzen Sie das benötigte Elutions-Rack in die „Eluat“-Schublade („Eluate“).

Stellen Sie keine 96-Well-Platte auf den „Elutions-Stellplatz 4“

Verwenden Sie nur den „Elutions-Stellplatz 1“ mit dem zugehörigen Kühladapter.

Wenn Sie eine 96-Well-Platte verwenden, vergewissern Sie sich, dass die Platte in der richtigen Orientierung steht, da eine falsche Positionierung eine Probenverwechslung bei nachfolgenden Analysen verursachen könnte..

Wenn Sie das Rack für Elution Microtubes CL verwenden, nehmen Sie den Boden ab, indem Sie das Rack drehen, bis der Boden sich abnehmen lässt.

6. Bestücken Sie die „Reagenzien und Verbrauchsartikel“-Schublade („Reagents and Consumables“) mit der bzw. den erforderlichen Reagenzienkartusche(n) (RC) und Verbrauchsartikeln.

7. Führen Sie einen Inventar-Scan der „Reagenzien und Verbrauchsartikel“-Schublade durch.
8. Stellen Sie die Proben in ein geeignetes Proben-Rack und schieben Sie das Rack in die „Proben“-Schublade (“Sample”) ein.

WICHTIG: Bei VirusBlood200-Anwendungen sollten Probenröhrchen, die das Gemisch aus interner Kontrolle und Puffer ATE enthalten, auf Stellplatz A der „Proben“-Schublade gestellt werden.

Weitere Informationen zum Ansetzen des Gemischs und zur Verwendung einer internen Kontrolle finden Sie in dem entsprechenden Protokollblatt (unter www.qiagen.com/goto/dspdnakits verfügbar).

9. Geben Sie über den Touchscreen die erforderlichen Informationen zu jeder Proben-Charge, die verarbeitet werden soll, ein.

Geben Sie folgende Daten ein:

Probeninformationen (abhängig vom Typ des verwendeten Proben-Racks)

Protokoll, das abgearbeitet werden soll (Assay-Control-Set)

Elutionsvolumen und Abgabeposition (= Eluat-Position)

Bei VirusBlood200-Anwendungen: Probenröhrchen mit internen Kontrollen

Nach Eingabe der Chargen-Daten wechselt der angezeigte Status von **“LOADED”** („Geladen“) zu **“QUEUED”** („Bereit für Probenverarbeitung“). Sobald eine Proben-Charge bereit ist für die Verarbeitung (“queued“), erscheint die Schaltfläche **“Run”** („Ausführen“).

10. Drücken Sie auf die “Run“-Schaltfläche, um das Nukleinsäure-Reinigungsprotokoll zu starten.

Alle Verarbeitungsschritte werden vollautomatisch durchgeführt. Nach Ende des Protokolllaufs wechselt der angezeigte Status der Proben-Charge von **“RUNNING”** („Läuft“) zu **“COMPLETED”** („Abgeschlossen“).

11. Entnehmen Sie das Elutions-Rack mit den gereinigten Nukleinsäuren aus der „Eluat“-Schublade.

12. Entnehmen Sie das Elutions-Rack mit den gereinigten Nukleinsäuren aus der „Eluat“-Schublade.

Die DNA kann direkt weiterverwendet oder bei 2–8 °C, –20 °C oder –80 °C gelagert werden.

Wir empfehlen, die Eluatplatte unmittelbar nach Abschluss des Laufs aus der „Eluat“-Schublade zu entnehmen. Je nach Temperatur und Luftfeuchtigkeit kann es in Elutionsplatten, die nach dem Protokolllauf im QIASymphony SP stehen bleiben, zu Kondensation oder Verdunstung kommen.

Grundsätzlich kommt es nicht zu einer Verschleppung von Magnet-Partikeln in die Eluate. Falls dies doch einmal vorkommen sollte: Die meisten nachfolgenden Applikationen werden durch Magnet-Partikel im Eluat nicht beeinflusst.

Wenn die Magnet-Partikel vor Beginn der nachfolgenden Applikation entfernt werden müssen, sollten die Röhrchen oder Platten mit den Eluaten in einen passenden Magneten gestellt werden und die Eluate in saubere Röhrchen pipettiert werden (siehe auch Anhang, Seite 33).

Für jede Elutionsplatte wird eine Report-Datei erstellt.

13. Falls eine Reagenzienkartusche (RC) nur teilweise aufgebraucht wurde, verschließen Sie sie mit den mitgelieferten wiederverwendbaren Dichtungstreifen und die Röhrchen, die Proteinase K enthalten, mit den Schraubdeckeln, direkt nach Ende des Protokolllaufs, um Verdunstung zu vermeiden.

Hinweis: Weitere Informationen zur Lagerung von teilweise aufgebrauchten Reagenzienkartuschen finden Sie im Abschnitt „Lagerung und Handhabung der Reagenzien“ auf Seite 12.

14. Verwerfen Sie gebrauchte Probengefäße und (Flüssig-)Abfall gemäß den lokal geltenden Sicherheits- und Umweltschutzbestimmungen. Auf Seite **Fehler! Textmarke nicht definiert.** finden Sie weitere Sicherheitshinweise.

15. Reinigen Sie den QIASymphony SP.

Befolgen Sie die Wartungsanweisungen in den Handbüchern zu Ihrem Gerät. Stellen Sie sicher, dass die Tip-Guards (Pipettierschutz) regelmäßig gereinigt werden, um das Risiko von Kreuzkontaminationen zu minimieren.

16. Schließen Sie die Schublade des Geräts und schalten Sie den QIASymphony SP aus.

Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagement-System von QIAGEN wird jede Charge des QIASymphony DSP DNA Mini bzw. Midi Kits nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

Anwendungseinschränkungen

Die Systemfunktionalität wurde in Untersuchungen zur Leistungsevaluierung getestet, bei denen Gesamt-DNA aus humanen Vollblut- und Buffy-Coat-Proben, Gewebe- und FFPE-Gewebeproben sowie virale DNA aus humanem Vollblut gereinigt wurde.

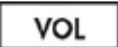
Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Leistungscharakteristik des Systems für jede Methode, die im Labor des Anwenders angewandt wird und die durch die QIAGEN Untersuchungen zur Leistungsevaluierung nicht abgedeckt ist, selbst zu validieren.

Um das Risiko einer negativen Auswirkung auf die Ergebnisse der diagnostischen Tests zu minimieren, sollten bei der Nukleinsäure-Reinigung und in den anschließend durchgeführten Nachweisreaktionen geeignete Kontrollen mitgeführt werden. Für weitere Validierungen werden die Richtlinien der International Conference on Harmonisation of Technical Requirements (ICH) empfohlen (in: *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text and Methodology*).

Alle gewonnenen diagnostischen Ergebnisse sollten nur im Zusammenhang mit anderen klinischen und/oder labormedizinischen Untersuchungsergebnissen interpretiert werden.

Symbole

Die Symbole in der folgenden Tabelle werden in dieser Gebrauchsanweisung verwendet.

Symbol	Symboldefinition
 Σ <N>	Kit enthält Reagenzien für die Verarbeitung von <N> Proben
	Zur Verwendung bis
	In-vitro-diagnostisches Medizinprodukt
	Katalognummer
	Chargennummer
	Materialnummer
	Komponenten
	Anzahl
Rn	R steht für Revision der Gebrauchsanweisung (Handbuch), n ist die Revisionsnummer
	Volumen
	Zulässiger Temperaturbereich
	Hersteller
	Nur zur Verwendung mit

Symbol	Symboldefinition
EC REP	Beachten Sie die Anwendungshinweise
	Enthält
CONT	Anzahl Vertiefungen (Wells)
WELL	Isopropanol
REAG CART	Proteinase K
ELU BUF	Guanidinisothiocyanat
IPA	Guanidinhydrochlorid
PROTK	Ethanol
GITC	Maleinsäure
GuHCL	BRIJ 58
EtOH	Lithiumchlorid
MALEIC ACID	Global Trade Item Number (Globale Artikelnummer)
BRIJ 58	ACHTUNG
LiCl	Scharfe Kante
GTIN	Volumen
	Zulässiger Temperaturbereich
	Hersteller

Hilfe zur Fehlersuche

Diese Anleitung zur Fehlersuche soll Ihnen eine Hilfe geben, falls einmal Probleme auftreten sollten. Weitere Informationen finden Sie auch auf der „Frequently Asked Questions“-Seite unseres Support-Centers unter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Darüber hinaus steht Ihnen unser Technischer Service (Tel.-Nr. siehe hintere Umschlagseite oder unter www.qiagen.com) unterstützend zur Seite, falls Sie Fragen zum Protokoll oder zu anderen Angaben in diesem Handbuch haben sollten. Das Team besteht aus erfahrenen Wissenschaftlern, die Ihnen in allen molekularbiologischen Fragen gerne weiterhelfen.

Kommentare und Vorschläge

Allgemeine Hinweise zur Handhabung

Fehlermeldung in Touchscreen-Anzeige	Falls während eines Protokolllaufs eine Fehlermeldung angezeigt wird, lesen Sie in den entsprechenden Abschnitten der Handbücher zu Ihrem Gerät nach.
--------------------------------------	---

Präzipitat in Reagenzientrog einer geöffneten Kartusche

- | | |
|--|---|
| a) Verdunstung von Puffer | Übermäßige Verdunstung kann zu erhöhter Salzkonzentration in den Puffern führen. Verwerfen Sie die Reagenzienkartusche (RC). Stellen Sie sicher, dass die Puffertröge von teilweise aufgebrauchten Reagenzienkartuschen mit wiederverwendbaren Dichtungsstreifen dicht verschlossen sind, wenn sie nicht für eine Nukleinsäure-Reinigung verwendet werden. |
| b) Lagerung der Reagenzienkartusche (RC) | Die Lagerung von Reagenzienkartuschen bei Temperaturen unter 15 °C kann zur Bildung eines Präzipitats führen. Falls erforderlich, entnehmen Sie die Tröge mit den Puffern QSL1 und QSB1 aus der Reagenzienkartusche (RC) und inkubieren Sie sie unter gelegentlichem Schütteln für 30 Minuten in einem Wasserbad* bei 37 °C, um das Präzipitat aufzulösen. Achten Sie darauf, die Tröge anschließend wieder in die korrekte Position zurückzustellen. Falls die Folie der Reagenzienkartusche bereits durchstochen ist: Stellen Sie sicher, dass die Tröge mit einem wiederverwendbaren Dichtungsstreifen dicht verschlossen sind und inkubieren Sie die komplette Reagenzienkartusche unter gelegentlichem Schütteln für 30 Minuten in einem Wasserbad* bei 37 °C. |

Niedrige DNA-Ausbeute

* Stellen Sie sicher, dass die Geräte regelmäßig und gemäß den Herstellerangaben überprüft, gewartet und kalibriert werden.

Kommentare und Vorschläge

- | | | |
|----|---|--|
| a) | Magnet-Partikel nicht vollständig resuspendiert | Vergewissern Sie sich vor Start des Protokolllaufs, dass die Magnet-Partikel vollständig resuspendiert sind. Schütteln Sie vor Gebrauch für mindestens 3 Minuten auf einem Laborschüttler (Vortex). |
| b) | Gefrorene Blut- oder Buffy-Coat-Proben nach Auftauen nicht gründlich gemischt | Tauen Sie gefrorene Blut- oder Buffy-Coat-Proben unter leichtem Schütteln auf, sodass eine gründliche Durchmischung gewährleistet ist. |
| c) | Unvollständige Lyse der Proben | Überprüfen Sie vor Gebrauch, dass die Puffer QSL1 und QSB1 keine Präzipitate enthalten.. Falls erforderlich, entnehmen Sie die Tröge mit den Puffern QSL1 und QSB1 aus der Reagenzienkartusche (RC) und inkubieren Sie sie unter gelegentlichem Schütteln für 30 Minuten in einem Wasserbad* bei 37 °C, um das Präzipitat aufzulösen. Falls die Folie der Reagenzienkartusche bereits durchstochen ist: Stellen Sie sicher, dass die Tröge mit wiederverwendbaren Dichtungstreifen dicht verschlossen sind und inkubieren Sie die komplette Reagenzienkartusche unter gelegentlichem Schütteln für 30 Minuten in einem Wasserbad* bei 37 °C. |
| d) | Unvollständiger Verdau von Gewebeproben | Stellen Sie sicher, dass die Gewebeprobe vollständig verdaut ist; verlängern Sie dazu ggf. die Inkubationszeit mit Proteinase K. |
| e) | Pipettenspitze mit unlöslichem Material verstopft | Vor Durchführung des QIASymphony Nukleinsäure-Reinigungsprotokolls wurde in der Probe vorhandenes unlösliches Material nicht entfernt. Falls erforderlich, zum Beispiel bei viskosem Probenmaterial, wenden Sie Proben-Vorbehandlungsmethoden an, die in den zugehörigen Protokollblättern beschrieben sind. Die Protokollblätter stehen unter www.qiagen.com/goto/dspdnakits zum Download zur Verfügung. |
| f) | Mangelhafte Buffy-Coat-Präparation bei Anwendung des Buffy-Coat-Protokolls | Stellen Sie sicher, dass bei der Präparation die Leukozyten-Fraktion effizient abgenommen wird. |
| g) | Niedrige Leukozytenzahl in der Vollblutprobe, die als Ausgangsmaterial für die Buffy-Coat-Präparation verwendet wurde | Wenn Sie das Buffy-Coat-Protokoll anwenden: Erhöhen Sie das Volumen der Vollblutprobe und halten Sie das Volumen der abgenommenen Leukozyten konstant. |
| h) | Unvollständige Lyse der Gewebeproben | Falls das Lysat unlösliches Material enthält, verlängern Sie die Inkubationszeit mit Proteinase K. |
| i) | Pellet bei Vorbehandlung von FFPE-Gewebeproben mit Xylol/Ethanol verloren | Führen Sie die Vorbehandlung unter sorgfältiger Beobachtung der Proben durch. |

* Stellen Sie sicher, dass die Geräte regelmäßig und gemäß den Herstellerangaben überprüft, gewartet und kalibriert werden.

Kommentare und Vorschläge

Nachfolgende Applikationen verlaufen mit der gereinigten DNA nicht optimal

- a) Nicht genügend DNA in der nachfolgenden Reaktion eingesetzt Bestimmen Sie den Gehalt an gereinigter DNA im Eluat durch spektrofotometrische Messung der Absorption bei 260 nm (siehe den Anhang auf Seite 33).*
- b) Zu viel DNA in der nachfolgenden Reaktion eingesetzt Überschüssige DNA kann einige enzymatische Reaktionen hemmen. Bestimmen Sie den Gehalt an gereinigter DNA im Eluat durch spektrofotometrische Messung der Absorption bei 260 nm (siehe den Anhang auf Seite 33).*

Absorptionsverhältnis A_{260}/A_{280} der gereinigten DNA zu niedrig

Absorptionswert bei 320 nm nicht von den bei 260 nm und 280 nm gemessenen Werten abgezogen

Um den DNA-Gehalt im Eluat um eventuell vorhandene Magnet-Partikel zu korrigieren, sollte eine Absorptionsmessung bei 320 nm vorgenommen werden und der Wert vom Absorptionsergebnis bei 260 nm und 280 nm abgezogen werden (siehe den Anhang auf Seite 33).*

* Stellen Sie sicher, dass die Geräte regelmäßig und gemäß den Herstellerangaben überprüft, gewartet und kalibriert werden.

Anhang: Bestimmung von Konzentration, Ausbeute und Reinheit der DNA

Bestimmung von Konzentration und Ausbeute an DNA

Die DNA-Konzentration und -Ausbeute sollte über die fotometrische Messung der Absorption im Eluat bei 260 nm (A_{260}) bestimmt werden. Die Absorptionswerte bei 260 nm sollten zwischen 0,1 und 1,0 liegen, um eine möglichst genaue Messung zu erhalten. Eine Absorptionseinheit bei 260 nm entspricht einer Konzentration von 50 µg DNA pro ml ($A_{260} = 1 = 50 \mu\text{g/ml}$).

Verwenden Sie Puffer ATE, um die Proben ggf. zu verdünnen und das Spektrofotometer zu kalibrieren.

Das Verhältnis der Absorptionswerte bei 260 nm und 280 nm ergibt ein Maß für die Reinheit der DNA (siehe Abschnitt „Reinheit der DNA“ auf Seite 34).

Messen Sie die Absorption bei 320, 280 und 260 nm. Ziehen Sie den Absorptionswert bei 320 nm von den bei 260 und 280 nm erhaltenen Werten ab, um so die Konzentrationsbestimmung um eine eventuell vorhandene Hintergrund-Absorption zu korrigieren.

Verwenden Sie die folgende Formel zur Berechnung von DNA-Konzentration und -Ausbeute:
Konzentration der DNA-Probe = $50 \mu\text{g/ml} \times (A_{260} - A_{320}) \times \text{Verdünnungsfaktor}$.
Gesamtmenge an gereinigter DNA = Konzentration x Probenvolumen (in ml).

Für den Fall, dass es zu einer Verschleppung von Magnet-Partikeln in das Eluat gekommen sein sollte und die nachfolgende Anwendung beeinträchtigt sein sollte (z. B. gereinigte DNA soll mittels Fluoreszenz-Kapillarsequenzierung analysiert werden), sollten Sie das Röhrchen

mit dem Eluat zuerst mit einem geeigneten magnetischen Separator behandeln und das Eluat in ein sauberes Röhrchen überführen (siehe unten).

Falls die Magnet-Partikel entfernt werden müssen, stellen Sie das Röhrchen mit der DNA in einen geeigneten magnetischen Separator (z. B. den QIAGEN 12-Tube Magnet, Kat.-Nr. 36912), bis sich die Magnet-Partikel an der Gefäßwandung abgesetzt haben. Wenn die DNA in eine Mikrotestplatte eluiert wurde: Stellen Sie die Mikrotestplatte auf einen geeigneten magnetischen Separator (z. B. den QIAGEN 96-Well-Magnet Type A, Kat.-Nr. 36915), bis sich die Magnet-Partikel an den Gefäßwandungen abgesetzt haben. Falls kein geeigneter magnetischer Separator verfügbar ist, zentrifugieren Sie das Reaktionsgefäß mit der DNA für 1 Minute bei maximaler Drehzahl in einer Mikrozentrifuge, um eventuell vorhandene Magnet-Partikel zu sedimentieren.

Hinweis: Für eine genaue Quantifizierung der DNA durch Messung der Absorption bei 260 nm empfehlen wir, die Probe mit dem entsprechenden Elutionspuffer zu verdünnen. Eine Verdünnung der Probe mit Wasser könnte ungenaue Werte ergeben. Der Elutionspuffer hat eine hohe Absorption bei 220 nm, was zu einer hohen Hintergrund-Absorption führen kann, wenn der Nullpunkt des Spektralfotometers nicht ordnungsgemäß eingestellt wird. Das Verdunsten von Eluat erhöht potenziell das Risiko eines Einflusses auf die Messung, insbesondere wenn dafür geringe Eluatvolumina unverdünnt verwendet werden. Die QIASymphony DSP DNA Kits enthalten eine separate Flasche mit Elutionspuffer, um den Nullpunkt des Spektralfotometers einzustellen.

Reinheit der DNA

Die Reinheit wird über das Verhältnis der korrigierten Absorption bei 260 nm zur korrigierten Absorption bei 280 nm bestimmt, d. h. sie entspricht dem Quotienten $(A_{260} - A_{320}) / (A_{280} - A_{320})$. Reine DNA hat ein Absorptionsverhältnis (A_{260} / A_{280}) von 1,7–1,9.

Bestellinformationen

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
QIASymphony DSP DNA Mini Kit (192)	2 Reagenzienkartuschen und Enzym-Racks sowie Zubehör	937236
QIASymphony DSP DNA Midi Kit (96)	2 Reagenzienkartuschen und Enzym-Racks sowie Zubehör	937255
Verwandte Produkte		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	4 x 50 ml Puffer ATL zur Verwendung bei QIASymphony Protokollen für Gewebeproben	939016
Deparaffinization Solution (1 x 50 ml)	1 x 50 ml Entparaffinierungslösung zur Verwendung bei QIASymphony Protokollen für FFPE-Gewebeproben	939018
Accessory Trough (10)	Reagenzientröge zur Verwendung mit dem QIASymphony SP	997012
Reagent Cartridge Holder (2)	Reagenzienkartuschen-Halter zur Verwendung mit dem QIASymphony SP	997008
Tube Insert, 2 ml, v2, sample carrier, Qsym	Adapter für Sekundär-Probenröhrchen (für 2-ml-Reaktionsgefäße mit Schraubdeckel); zur Verwendung mit dem QIASymphony Röhrchen-Gestell	9242083
Tube Insert, 11 mm, Revision, sample carrier, Qsym	Adapter für Primär-Probenröhrchen (11 mm); zur Verwendung mit dem QIASymphony Röhrchen-Gestell	9242057
Tube Insert, 13 mm, sample carrier, Qsym	Adapter für Primär-Probenröhrchen (13 mm); zur Verwendung mit dem QIASymphony Röhrchen-Gestell	9242058
Cooling Adapter, 2 ml, V2, Qsym	Kühladapter für 2-ml-Reaktionsgefäße mit Schraubdeckel; zur Verwendung in	9020674

	der „Eluat“-Schublade des QIASymphony	
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Kühladapter für Elutionsröhrchen-Racks; zur Verwendung in der „Eluat“-Schublade des QIASymphony	9020730
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Probenverarbeitungs-Einsätze mit jeweils 8 Wells zur Verwendung mit dem QIASymphony SP	997002
8-Rod Covers (144)	8-Magnetstab-Schutzhülsen zur Verwendung mit dem QIASymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Einmal-Filterpipettenspitzen (1,5 ml); 8 Racks mit je 128 Stück. Zur Verwendung mit dem QIAcube® oder dem QIASymphony SP	990332
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	Einmal-Filterpipettenspitzen (1,5 ml); 8 Racks mit je 128 Stück; zur Verwendung mit dem QIASymphony SP	997024
Tip Disposal Bags (15)	Pipettenspitzen-Abfallbeutel zur Verwendung mit dem QIASymphony SP	9013395
12-Tube Magnet	Magnetischer Separator für Magnet-Partikel in 12 x 1,5-ml- oder 2-ml-Reaktionsgefäßen	36912
96-Well Magnet Type A	Magnetischer Separator für Magnet-Partikel in den Wells einer 96-Well-Platte, zwei 96-Well-Mikrotestplatten (FB)	36915
S-Blocks (24)	96-Well-Blocks mit 2,2 ml pro Well; 24 pro Packung	19585
Reuse Seal Set (20)	Satz wiederverwendbarer Dichtungstreifen zum dichten Verschließen von teilweise aufgebrauchten QIASymphony Reagenzienkartuschen	997006

Elution Microtubes CL (24 x 96)

Nicht sterile Polypropylen-Reaktionsgefäße (max. Fassungsvermögen: 0,85 ml; Kapazität bei Lagerung: weniger als 0,7 ml; Kapazität bei Elution: 0,4 ml); insgesamt 2304 Stück in Racks à 96 Stück; inklusive Deckel-Streifen

19588

QIAsymphony SP

QIAsymphony Probenverarbeitungsmodul; 1 Jahr Garantie auf alle Teile, Arbeitskosten inklusive

9001297

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Anwendungseinschränkungen finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit-Handbuch oder Geräte-Handbuch. QIAGEN Kit- und Geräte-Handbücher stehen unter www.qiagen.com zur Verfügung oder können Sie vom QIAGEN Technischen Service oder dem für Sie zuständigen Außendienstmitarbeiter oder Distributor anfordern.

Notizen

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarung für QIAsymphony DSP DNA Kits

Mit der Nutzung dieses Produkts erkennen Käufer und Nutzer des Produkts die folgenden Bedingungen an:

1. Das Produkt darf nur gemäß den Angaben in den Protokollen und in diesem Handbuch zu diesem Produkt und ausschließlich mit den Komponenten, die im Kit geliefert werden, verwendet werden. QIAGEN gewährt im Rahmen ihrer Eigentumsrechte keinerlei Lizenz, die zum Kit gehörenden Komponenten mit anderen Komponenten, die nicht zum Kit gehören, zu verwenden oder zu kombinieren, mit Ausnahme der in den Protokollen, die mit dem Produkt bereitgestellt werden, in diesem Handbuch und in zusätzlichen, im Internet unter www.qiagen.com verfügbaren Protokollen beschriebenen Anwendungen. Einige dieser Zusatzprotokolle wurden von QIAGEN-Nutzern für QIAGEN-Nutzer bereitgestellt. Diese Protokolle sind nicht durch QIAGEN gründlich getestet oder optimiert.
2. Über die ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen hinaus übernimmt QIAGEN keinerlei Garantie dafür, dass dieser Kit und/oder die mit ihm durchgeführte(n) Anwendung(en) die Rechte Dritter nicht verletzt.
3. Dieser Kit und seine Komponenten sind für die einmalige Verwendung lizenziert und dürfen nicht wiederverwendet, wiederaufgearbeitet oder weiterverkauft werden.
4. QIAGEN lehnt außer der ausdrücklich gewährten Lizenzgewährung jede weitere Lizenzgewährung ab, sowohl ausdrücklich als auch konkludent.
5. Käufer und Anwender des Kits stimmen zu, keinerlei Schritte zu unternehmen oder anderen die Einleitung von Schritten zu gestatten, die zu unerlaubten Handlungen im obigen Sinne führen könnten oder solche erleichtern könnten. QIAGEN kann die Verbote dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung an jedem Ort gerichtlich geltend machen und wird sämtliche Ermittlungs- und Gerichtskosten, inklusive Anwaltsgebühren, zurückfordern, die ihr bei der Geltendmachung dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung oder irgendeines ihrer geistigen Eigentumsrechte im Zusammenhang mit dem Kit und/oder dessen Komponenten entstehen.

Aktualisierte Nutzungs- und Lizenzbedingungen können unter www.qiagen.com nachgelesen werden.

Marken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony®, QIAcube® (QIAGEN Gruppe); Sarstedt® (Sarstedt AG und Co.). Eingetragene Marken, Warenzeichen usw., die in diesem Dokument verwendet werden, auch wenn sie nicht ausdrücklich als solche gekennzeichnet sind, gelten als gesetzlich geschützt. 08/2015 HB-0977-004

© 2012–2015 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

Ordering www.qiagen.com/contact | Technical Support support.qiagen.com | Website www.qiagen.com