

# QIASymphony SP protokollark

---

## DNA\_Buffy\_Coat\_400\_V6\_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 Midi Kit.

<b>Sett</b>	QIASymphony DSP DNA Midi Kit (kat.nr. 937255)
<b>Prøvemateriale</b>	Buffy coat (EDTA, sitrat eller heparin, antikoagulert)
<b>Protokollnavn</b>	DNA_BC_400_V6_DSP
<b>Standard analysekontrollsett</b>	ACS_BC_400_V6_DSP
<b>Redigerbar</b>	Eluasjonsvolum: 200 µl, 400 µl
<b>Nødvendig programvareversjon</b>	Versjon 4.0

September 2012



---

Sample & Assay Technologies

## “Sample”-skuffen (prøve)

<b>Prøvetype</b>	Buffy coat (EDTA, sitrat eller heparin, antikoagulert)
<b>Prøvevolum</b>	Avhenger av type prøverør som brukes. Se <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> for mer informasjon.
<b>Primære prøverør</b>	Ikke relevant
<b>Sekundære prøverør</b>	Se <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> for mer informasjon.
<b>Innlegg</b>	Avhenger av type prøverør som brukes. Se <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> for mer informasjon.

n/a = ikke relevant.

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

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

n/a = ikke relevant.

## “Waste”-skuff (avfall)

<b>Enhetsboksholder 1–4</b>	Tomme enhetsbokser
<b>Avfallsposeholder</b>	Avfallspose
<b>Holder for væskeavfallsflaske</b>	Tøm væskeavfallsflasken

## “Eluate”-skuff (eluat)

Elusjonsstativ (vi anbefaler bruk av åpning 1, nedkjølingsposisjon) Se [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://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 <sup>†‡</sup>	til	4	4	4	8
Filterspisser engangsbruk, 1500 µl <sup>†‡</sup>	til	110	212	314	424
Prøveklargjøringspatroner <sup>§</sup>		18	36	54	72
8-stangdeksler <sup>¶</sup>		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  $6 \times 10^6$  celler/ml, 1 ml buffy coat. Antar man en 5x berikning av hvite blodceller fører dette til  $3 \times 10^7$  celler/ml. I en protokoll som bruker 400  $\mu$ l buffy coat, vil derfor  $1,2 \times 10^7$  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](http://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**