

Februar 2017

# QIAsymphony<sup>®</sup> DSP sirkulerende DNA-sett

Ytelsesegenskaper



937556

---

# Innhold

Ytelsesegenskaper .....	4
Grunnleggende ytelse .....	4
Kjøringspresisjon .....	6
Tilsvarende ytelse av 2 ml og 4 ml protokoller.....	6
Størrelsesdistribusjon.....	7
Eluatstabilitet.....	9

---

QIAasymphony DPS sirkulerende DNA-system utgjør et bruksklart in vitro-system til kvalitativ rensing av humant sirkulerende cellefritt DNA (ccfDNA) fra humant plasma og urin ved bruk av QIAasymphony SP-instrumentet.

QIAasymphony DSP sirkulerende DNA-sett skal kun brukes i kombinasjon med QIAasymphony SP-instrumentet.

QIAasymphony DSP sirkulerende DNA-settet gir reagenser for helautomatisk og samtidig rensing av humant ccfDNA fra et stort utvalg humane plasmatyper (EDTA eller sitrat antikoagulert samt plasma fra ccfDNA-stabiliserte blodprøverør) og human urin (stabilisert og ikke-stabilisert). En ytelsesegenskap for hvert blodprøveglass er ikke fastsatt, og må valideres av brukeren.

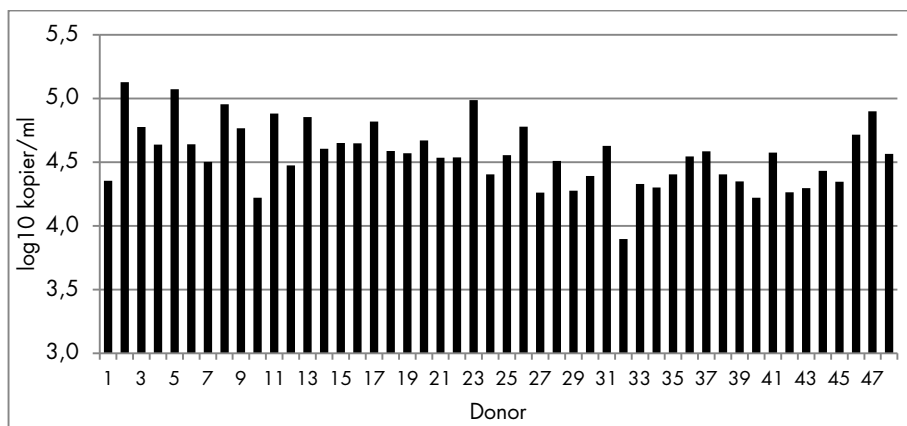
Det rensede ccfDNA er kompatibel med et bredt utvalg nedstrømsapplikasjoner. QIAasymphony SP utfører alle trinn av rensingsprosedyren. Opptil 96 prøver, i omganger på 24, behandles i en enkeltkjøring. Urinprøver kan forutsette manuell forhåndsbehandling av prøvene.

# Ytelsesegenskaper

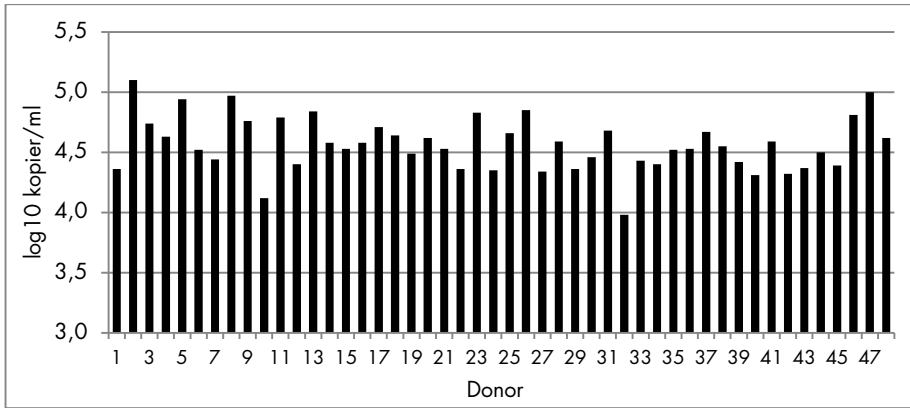
## Grunnleggende ytelse

Den grunnleggende ytelsen for QIAasymphony DSP sirkulerende DNA-sett ble evaluert ved bruk av 48 enkeltdonorer for ccfDNA ekstrahert fra 4 ml stabilisert plasma samt 4 ml EDTA-plasma og 4 ml stabilisert urin. ccfDNA-utmatingen ble bestemt med en intern PCR-analyse i sanntid for den 18S ribosomale RNA-kodingssekvensen.

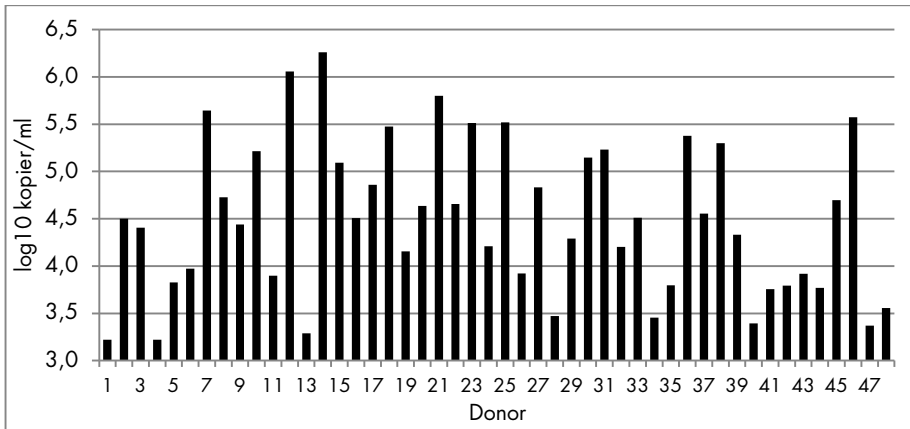
Forskjellen i utmating ( $\log_{10}$  kopier/ml) i figur 1 (4 ml stabilisert plasma), figur 2 (4 ml EDTA plasma) og figur 3 (4 ml stabilisert urin) reflekterer de sterke donoravhengige konsentrasjonene av ccfDNA som vanligvis finnes i det samme volumet av det relevante prøvematerialet. ccfDNA-utmatingen mellom stabilisert og EDTA-plasma viser en høy korrelasjon for de 48 enkeltdonorene ved bruk av plasma fra to ulike typer BCT-er (figur 1 og figur 2).



**Figur 1. ccfDNA-utmatingen fra plasma fra 48 enkeltdonorer: ccfDNA-stabiliserte blodprøverør.** Bloddonasjon fra 48 enkeltdonorer ble utført i ccfDNA-stabiliserte blodprøverør. ccfDNA ble ekstrahert fra 4 ml QIAasymphony DSP sirkulerende DNA-sett, og ccfDNA-utmatingen ble kvantifisert ved bruk av en intern PCR-analyse i sanntid for 18S-kodingssekvensen. Resultater ble beregnet som målkopier per ml plasmainmating.



**Figur 2. ccfDNA-utmatningen fra plasma fra 48 enkeltdonorer: EDTA-blodprøveglass.** Bloddonasjon fra 48 enkeltdonorer ble utført i EDTA-blodprøverør. ccfDNA ble ekstrahert fra 4 ml QIASymphony DSP sirkulerende DNA-sett, og ccfDNA-utmatningen ble kvantifisert ved bruk av en intern PCR-analyse i sanntid for 18S-kodingssekvensen. Resultater ble beregnet som målkopier per ml plasmainnmatning.



**Figur 3. ccfDNA-utmatningen fra stabilisert urin fra 48 enkeltdonorer.** Urin fra 48 enkeltdonorer ble stabilisert umiddelbart etter prøvetaking. ccfDNA ble ekstrahert fra 4 ml urin ved bruk av QIASymphony DSP sirkulerende DNA-sett, og ccfDNA-utmatning ble kvantifisert ved bruk av en intern PCR-analyse i sanntid for 18S-kodingssekvensen. Resultater ble beregnet som målkopier per ml urininntak.

## Kjøringspresisjon

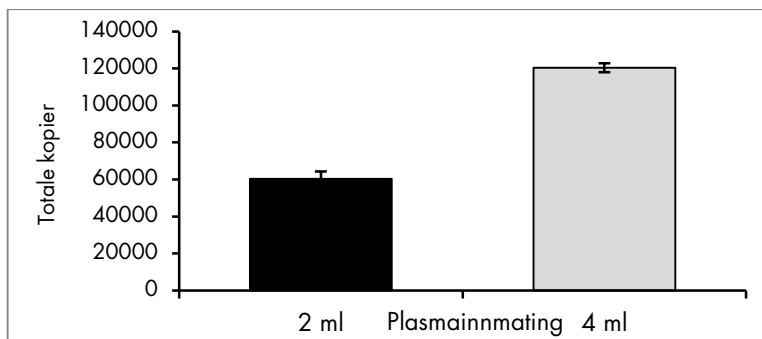
Variasjonskoeffisienter (CV-er) ble bestemt for ekstraksjon av humant ccfDNA fra EDTA-plasma. For presisjonsanalyse ble ccfDNA kvantifisert ved bruk av en intern PCR-analyse i sanntid for den 18S ribosomale kodingssekvensen. Totalt ble det utført 10 QIAAsymphony-kjøringer, hver i 4 omganger (8 replikater per omgang). Presisjonsdata vises i tabell 1.

**Tabell 1. Analyse av nøyaktighetsberegninger**

Presisjon	CV (%)
Innen omgang	11,67
Repeterbarhet	13,14
Medium presisjon	13,14
Total presisjon	14,12

## Tilsvarende ytelse av 2 ml og 4 ml protokoller

Tilsvarende ytelse av protokoller for 2 ml og 4 ml prøveinnmating ble evaluert for QIAAsymphony DSP sirkulerende DNA-sett ved bruk av endogent ccfDNA ekstrahert fra en human EDTA-plasmapool. Totalt 8 uavhengige QIAAsymphony-kjøringer ble utført, hver kjøring i 4 omganger med 8 replikater per omgang. Det lineære området for prosedyren for QIAAsymphony DSP sirkulerende DNA-sett ble bestemt for 18S-kodingssekvensen med en intern PCR-analyse i sanntid (figur 4). Forholdet av forskjellen for 2 ml og 4 ml protokoller vises i tabell 2. (Referanseprotokollen er 4 ml prøveinnmating).



**Figur 4. Tilsvarende ytelse ved bruk av den 2 ml og 4 ml prøveinntaksprotokollen.** Det lineære området av ccfDNA-protokollen ble bestemt ved bruk av de 2 ml og 4 ml protokollen. ccfDNA-utmatningen ble kvantifisert ved bruk av en intern PCR-analyse i sanntid for 18S-kodingssekvensen. Resultater ble beregnet som totale kopier per protokoll.

**Tabell 2. Forskjell mellom 2 ml og 4 ml protokoller (N = 256)**

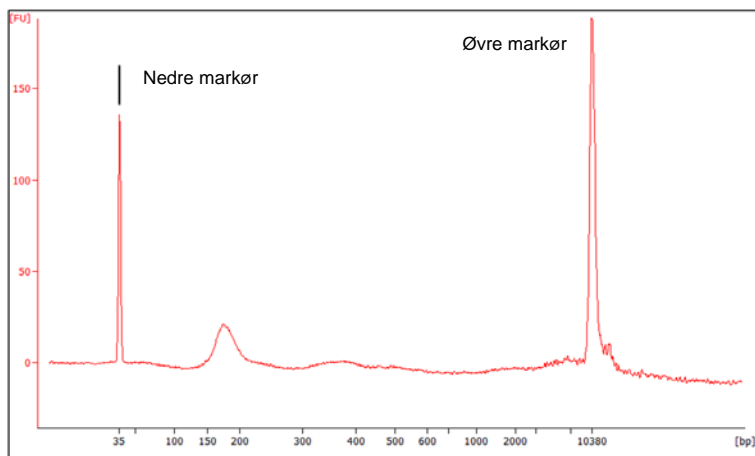
Parameter	Verdi
Anslått forhold av geometrisk gjennomsnitt i beregnede kopier/ml	1,01
Nedre 95 % konfidensgrense	0,92
Øvre 95 % konfidensgrense	1,11

Ytelsen av protokoller for 2 ml og 4 ml prøveinntak er tilsvarende, målt i beregnede kopier/ml.

## Størrelsesdistribusjon

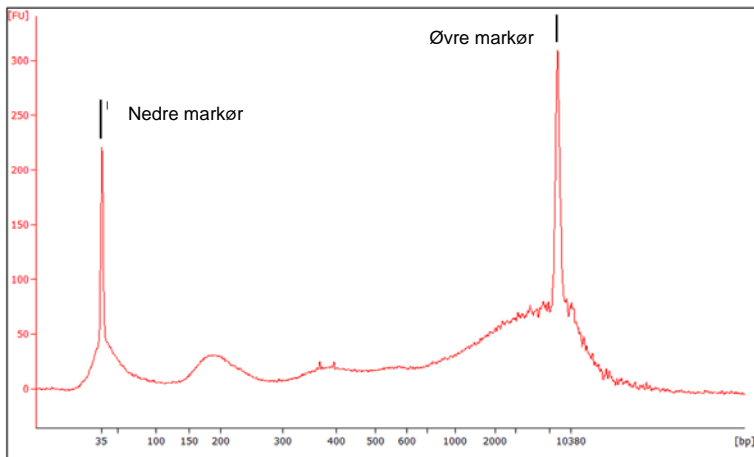
For å evaluere størrelsesdistribusjonen av prøveutmatningen ble ccfDNA fra en prøveinntak på 4 ml ekstrahert ved bruk av QIAasympy DSP sirkulerende DNA-sett, eluert i 75 µl, og deretter ble 1 µl eluat utsatt for størrelsesanalyse med Agilent 2100 bioanalytator ved bruk av en Agilent høysensitiv DNA-brikke. Totalt 5 uavhengige replikater ble utført. Én representativ DNA-profil vises for plasma i figur 5 og for stabilisert urin i figur 6.

Elektroferogrammet for plasma i figur 5 viser den hyppig observerte toppverdien ved ~160 bp, fra 145 bp til 196 bp, som er i området for lengden av det histonbundne DNA i nukleosomet. Elektroferogrammet for urin i figur 6 viser at den dominante toppverdien ved ~160 bp er bredere, fra ~145 bp til 250 bp. I tillegg, finnes det for urin en sekundær toppverdi fra ~20 bp til 100 bp (ved nivået for den nedre markørtoppverdien) som indikerer en ccfDNA-fraksjon med en høyere grad av fragmentering. I tillegg viser figur 6 et høyt antall lange DNA-fragmenter fra ~2 kb. En stor mengde av slike genomiske DNA-fragmenter påvises ofte i urinprøven, som regel grunnet genomisk DNA-frigivelse fra celler i urinen.



**Figur 5. Størrelsesdistribusjon av ccfDNA fra plasma (bioanalytatorprofil).** ccfDNA ble ekstrahert fra 4 ml EDTA-plasma ved bruk av QIASymphony DSP sirkulerende DNA-sett; 1  $\mu$ l eluat ble utsatt for en Agilent høysensitiv DNA-brikkeanalyse. X-akse: baseparstørrelse (bp); Y-akse: fluorescensenheter (FU).



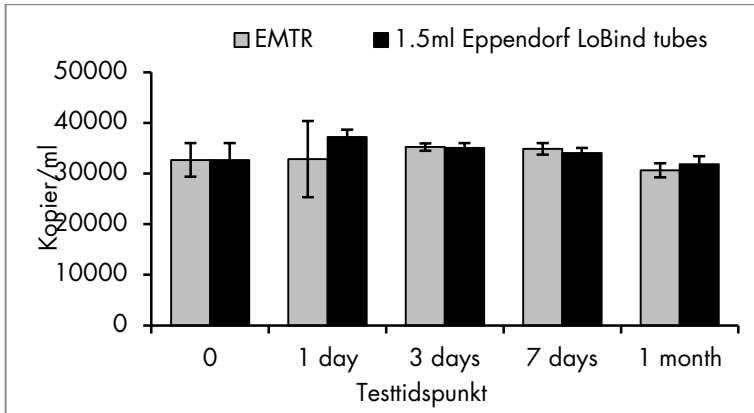


**Figur 6. Størrelsesdistribusjon av ccfDNA fra urin (bioanalyzerprofil).** ccfDNA ble ekstrahert fra 4 ml stabilisert urin ved bruk av QIASymphony DSP sirkulerende DNA-sett; 1  $\mu$ l eluat ble utsatt for en Agilent høysensitiv DNA-brikkeanalyse. X-akse: baseparstørrelse (bp); Y-akse: fluorescensenheter (FU).

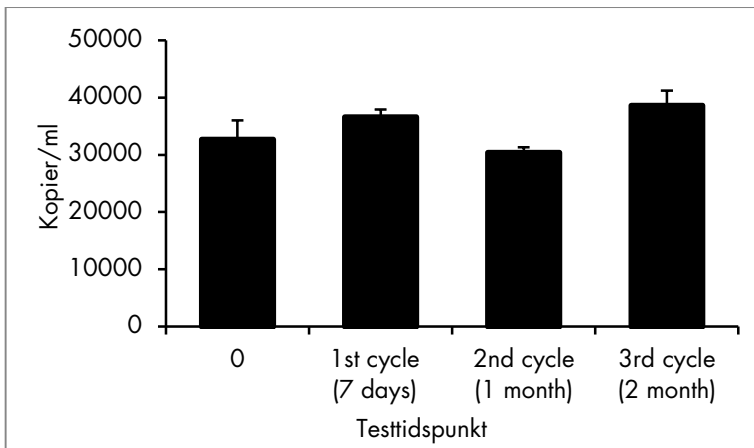
## Eluatstabilitet

Eluatstabilitet for QIASymphony DSP sirkulerende DNA-sett ble evaluert ved bruk av ekstrahert ccfDNA fra en human EDTA-plasmapool. Eluater ble oppbevart i 2 ulike elueringsstativformat: QIAGEN EMTR (Elution Microtubes CL 96 (Elueringsmikrorør CL 96); katalognr. 19588) og 1.5 ml Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock tubes (1,5 Eppendorf® LoBind rør med trykkhette og sikkerhetslås). Eluater ble analysert i replikater på 8. Stabiliteten av DNA i eluater ble bestemt med en intern PCR-analyse i sanntid for den 18S ribosomale RNA-kodingssekvensen.

Eluatstabilitet ved 2–8 °C ble ikke påvirket av varigheten av oppbevaringsperioden i opptil én måned, eller av oppbevaringsformatet (figur 7). Stabiliteten til DNA i LoBind-rør ble ikke påvirket av oppbevaring ved –15 til –30 °C som inkluderte 3 fryse-/tinesykluser etter 7 dager, én måned og to måneder (figur 8).



**Figur 7. Stabilitet av ccfDNA i eluater oppbevart ved 2–8 °C i 2 rørformat.** ccfDNA ble ekstrahert fra QIAsymphony DSP sirkulerende DNA-sett og oppbevart ved 2–8 °C for ulike testtidspunkter. ccfDNA-utmatingen ble kvantifisert ved bruk av en intern PCR-analyse i sanntid for 18S-kodingssekvensen. Resultater ble beregnet som målkopier per ml plasmainmating.



**Figur 8. Stabilitet for ccfDNA i eluater oppbevart ved –15 til –30 °C inkludert 3 fryse-/tinesykluser.** ccfDNA ble ekstrahert fra EDTA-plasma ved bruk av QIAsymphony DSP sirkulerende DNA-sett og oppbevart ved –15 til –30 °C i 1,5 ml Eppendorf LoBind-rør. Utmatingen av ccfDNA ble bestemt ved 3 testtidspunkter ved å bruke samme eluat ved 3 fryse-/tinesykluser. ccfDNA-utmatingen ble kvantifisert ved bruk av en intern PCR-analyse i sanntid for 18S-kodingssekvensen. Resultater ble beregnet som målkopier per ml plasmainmating.

---

For oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfrasingelser, se den respektive håndboken eller brukerhåndboken for QIAGEN-settet. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN-sett er tilgjengelige på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan anmodes fra QIAGENs tekniske tjenester eller din lokale distributør.

Varemerker: QIAGEN<sup>®</sup>, Sample to Insight<sup>®</sup>, QIASymphony<sup>®</sup> (QIAGEN Group); Eppendorf<sup>®</sup> (Eppendorf AG).  
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.

02/2017 HB-2309-D01-001  
© 2017 QIAGEN, med enerett.



---

Bestilling [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Teknisk støtte [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Nettsted [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

---