

2017年3月

# QIAsymphony® DSP Circulating DNA キット使用説明書 (ハンド ブック)



192

バージョン 1



in vitro診断用



937556



QIAGEN GmbH,  
QIAGEN Strasse 1,  
40724 Hilden  
ドイツ



1103177JP

# 目次

使用目的 .....	3
要約及び説明 .....	3
手順の原理 .....	3
同梱される材料 .....	6
キット内容 .....	6
必要であるが同梱されない材料.....	7
警告および注意点.....	8
試薬保管および取り扱い.....	10
キット内容 .....	10
試料採取と準備 .....	11
手順 .....	12
QIAasymphony SPを使用した自動精製.....	12
プロトコール：循環セルフリーDNAの精製.....	18
品質管理 .....	21
制限事項 .....	21
記号 .....	22
トラブルシューティングガイド.....	24
付録：循環セルフリーDNAの定量.....	27
注文情報 .....	28

# 使用目的

QIAsymphony DSP Circulating DNAキットは、生体試料からのヒト循環セルフリーDNAを自動分離および精製する磁気粒子テクノロジーを利用しています。

本製品は技術者や医師など、分子生物学技術を習得した専門家ユーザー向けです。

QIAsymphony DSP Circulating DNAキットはin vitro診断用です。

## 要約及び説明

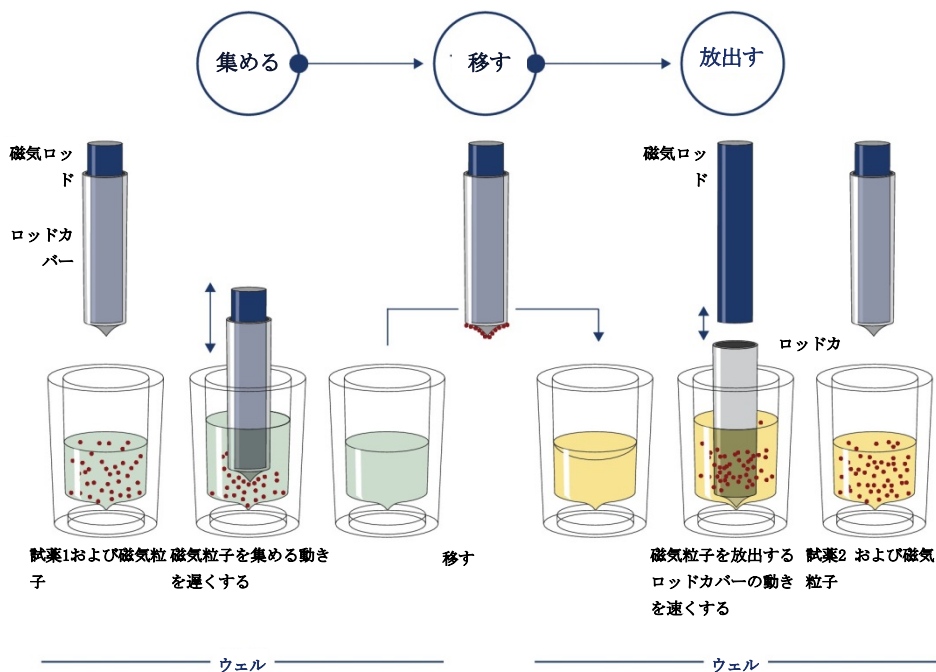
循環セルフリー核酸 (ccfDNA) は血漿や尿に短い断片 <1000 bp (DNA) <1000 nt (RNA) として、または 20 nt (miRNA) として存在します。血漿や尿といった生体液体中の循環セルフリー核酸濃度は通常低く、個人間の差がかなりあります。ccfDNA については、1~100 ng/ml の濃度範囲があります。QIAsymphony DSP Circulating DNAシステムはヒト血漿や尿からQIAsymphony SP装置でヒト循環セルフリーDNAの定性精製を行うready-to-useのin vitro システムです。

QIAsymphony DSP Circulating DNAキットは全自動で試薬を供給し、同時に生体試料由来のヒトccfDNA精製を行います。各採血チューブの性能特性は確立しておらず、ユーザーがバリデーションを行わなければなりません。磁気粒子テクノロジーではタンパク質、ヌクレアーゼ、その他不純物を含まない高品質の核酸精製が可能です。精製したccfDNAは幅広い下流アプリケーションに適します。QIAsymphony SPは精製手順ステップすべてを行います。24 をバッチとして、96のサンプルまで1回のランで処理できます。尿サンプルは手作業のサンプル前処理が必要になることがあります。

## 手順の原理

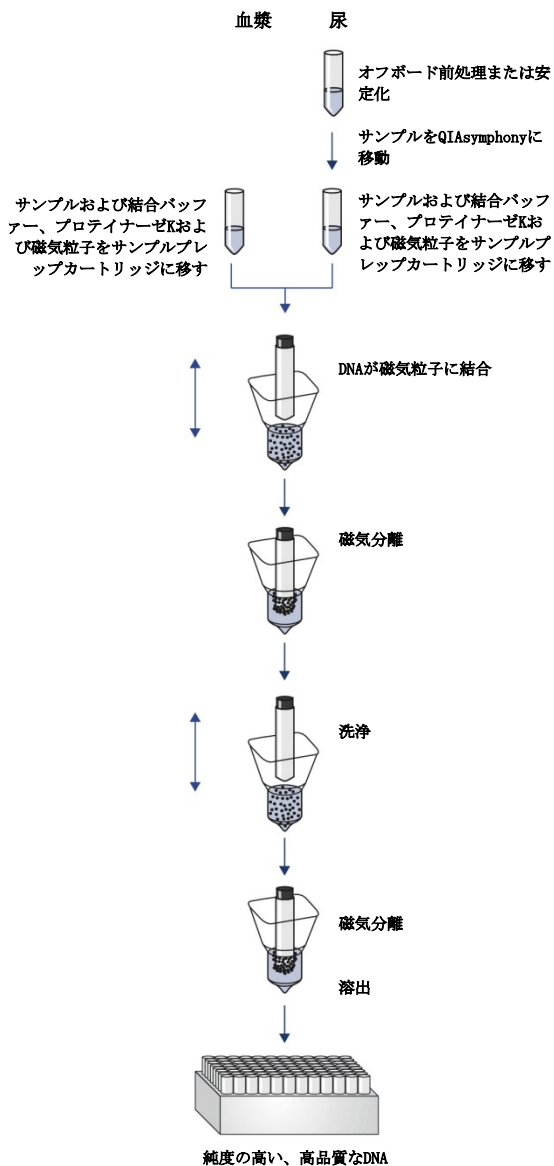
QIAsymphony テクノロジーは、アニオン交換ベース核酸精製のスピードと効率、そして磁気粒子の便利な取り扱いやすさを併せ持っています (図 1、下)。精製手順は、感染性の

可能性のあるサンプルの安全で再現性のある取り扱いを行うように作られ、結合、洗浄、溶出（5ページのフローチャート参照）の3ステップがあります。ユーザーは異なるサンプル投入量から選択できます。




**図 1 QIAasymphony SP原理の模式図** QIAasymphony SPは以下のような磁気粒子を含むサンプルを処理します。ロッドカバーで保護された磁気ロッドがサンプルの入ったウェルに入り、磁気粒子を引きつけます。磁気ロッドカバーは他のウェルの上であり、磁気粒子が放出されます。このステップがサンプル処理の間、数回繰り返されます。QIAasymphony SP は 24本の磁気ロッドを含む磁気ヘッドを使用するので 24までのサンプルを同時に処理できます。

## QIASymphony DSP Circulating DNA 手順



# 同梱される材料

## キット内容

QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit		(192)
カタログ番号		937556
反応数		192
名称		数量
RC	Reagent cartridge (試薬カートリッジ)*  †	2
PROTK	QIAGEN Proteinase K (QIAGEN プロテイナーゼ K)	6 x 10 ml
PL	Piercing lid (ピアシング蓋)	2
RSS	Reuse Seal Set ‡	2
	使用説明書 (ハンドブック)	1

\* アジ化ナトリウムを保存料として含みます。

† 記号と定義リストはページ 22 を参照してください。

‡ Reuse Seal Setには8枚の再使用シールストリップが含まれます。

## 必要であるが同梱されない材料

化学物質を扱うときは、必ず適切な白衣、使い捨て手袋、保護眼鏡を着用してください。詳しい情報は、製品の製造元が作成した適切な安全データシート(SDS)を参照してください。

装置を製造者の推奨に従ってチェック、校正したかを確認してください。

- QIASymphony SP(カタログ番号9001297)
- Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (サンプルプレップカートリッジ、8ウェルカートリッジ) (カタログ番号 997002)
- 8-Rod Covers (8ロッドカバー) (カタログ番号 997004)
- Filter-Tips, 200 µl and 1500 µl (フィルターチップ、200 µlおよび1500 µl) (カタログ番号990332および997024)
- サンプルチューブ。適合する一次および二次チューブのフォーマットについては、 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)の製品ページリソースタブ下にある実験器具リストを参照してください。
- 溶出チューブまたはプレート。適合する溶出チューブおよびプレートのフォーマットについては、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)の製品ページのリソースタブ下にある実験器具リストを参照してください。
- リン酸緩衝食塩水 (PBS、サンプル量をかさ増しするのに必要になることがあります)
- ボルテクサー
- Buffer ATL (バッファーATL) (尿サンプルの前処理用、カタログ番号939016)
- 尿サンプル前処理および安定化に必要な追加材料については、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)の製品ページリソースタブ下にあるプロトコルシートを参照してください。

# 警告および注意点

in vitro診断用

キットの使用前に、指示をすべてよく読んでください。

化学物質を扱うときは、必ず適切な白衣、使い捨て手袋、保護眼鏡を着用してください。詳しい情報は、適切な安全データシート(SDS)を参照してください。SDSはPDFファイルにて [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) で入手でき、ここに各QIAGENキットやキット成分のSDSがあり、閲覧し、印刷できます。

## 警告

### 人員負傷のリスク



サンプル調製廃液に直接漂白剤や酸性溶液を加えないでください。

試薬カートリッジ(RC)中のバッファーはアジ化ナトリウムを含みます。キットのバッファーがこぼれた場合、適切な実験室用洗剤と水で拭いてください。こぼれた液体に感染の可能性がある場合、影響を受けたエリアをまず実験室用洗剤と水、そして1% (v/v)次亜塩素酸ナトリウムで洗浄します。

以下の危険有害性および予防情報は、QIASymphony DSP Circulating DNAキットの部品に適用されます。

MBS3

成分：アジ化ナトリウム。警告！飲み込んだ場合有害のおそれがあります。気分が悪い場合、中毒情報センターに電話するか医師の診察を受けてください。



## プロテインナーゼ

K



成分：プロテインナーゼK。危険！軽度の皮膚炎症を引き起こします。吸入した場合、アレルギー、喘息症状、呼吸困難を生じることがあります。塵／煙／ガス／ミスト／蒸気／スプレーの吸入を避けてください。内容物／容器を許可された廃棄物処理工場に廃棄してください。呼吸器症状が起きた場合：中毒情報センターに電話するか医師の診察を受けてください。吸入した場合：呼吸が困難であれば、患者を新鮮な空気のあるところに移し、呼吸しやすい姿勢で休ませてください。呼吸器保護具を着用してください。

QSE2



危険！重篤な熱傷と目の損傷を引き起こします。内容物／容器を許可された廃棄物処理工場に廃棄してください。目に入った場合：数分間水でよくすすいで流してください。コンタクトレンズを着用していて容易に外せる場合は外してください。洗浄を続けてください。皮膚（または髪）についた場合：直ちに汚染された服をすべて取り去ってください。水／シャワーで皮膚を洗浄します。直ちに中毒情報センターに電話するか医師の診察を受けてください。施錠して保管してください。保護手袋／保護衣／保護眼鏡／顔面シールドを着用してください。

QSW9



内容物：エタノール。危険！重度の目の刺激を引き起こします。非常に引火性が高い液体と蒸気です。内容物／容器を許可された廃棄物処理工場に廃棄してください。目の刺激が続く場合：医師の診察を受けてください。熱／火花／裸火／熱面から離れてください。-禁煙。換気の良い場所に保存します。冷所に保管します。

保護手袋／保護衣／保護眼鏡／顔面シールドを着用してください。

## 試薬保管および取り扱い

QIAsymphony DSP Circulating DNAキットは室温(15~25° C)で垂直にして保存してください。試薬カートリッジ(RC)中の磁気粒子はこの温度で保存すれば活性を保ちます。

**注：**QIAsymphony DSP Circulating DNAキットの箱に貼ってあるラベルには、キットの使用期限が示してあります。結果ファイルは試薬カートリッジ(RC)にのみ使用期限を定めています。

QIAsymphony DSP Circulating DNAキットを使用期限後に使用しないでください。

### キット内容

QIAsymphony DSP Circulating DNAキットには保存できるready-to-useのプロテインアーゼK溶液が含まれます。

試薬カートリッジ(RC)を15° C以下で保存しないでください。

一部使用した試薬カートリッジ(RC)は最長4週間保存でき、費用対効果の高い試薬の再使用と柔軟なサンプル処理が可能になります。試薬カートリッジ(RC)を一部使用した場合、プロトコールランが終了したらすぐ、磁気粒子が入ったトラフのカバーを交換し、付属のReuse Seal Stripで封をし、蒸発を防いでください。

試薬の蒸発を防ぐため、試薬カートリッジ(RC)を最長15時間(ラン時間を含め)、最大環境温度32° Cで開けておきます。誤ったキット部品の保存は、バッファーの劣化を加速します。

---

少ないサンプル数(<24)でバッチをランするのは、試薬カートリッジ(RC)が開く時間と必要なバッファー体積の双方を増加させ、カートリッジごとに可能なサンプル調製の合計数を減らす可能性があります。

試薬カートリッジ(RC)をUV光(例:汚染除去用)に暴露しないでください。暴露は試薬カートリッジ(RC)およびバッファーの劣化を加速する場合があります。

## 試料採取と準備

詳しい自動手順(特定のプロトコールで使用できるサンプルチューブの情報を含む)および特定のサンプル前処理については、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)の製品ページリソースタブ下にある関連プロトコールシートを参照してください。

# 手順

## QIAsymphony SPを使用した自動精製

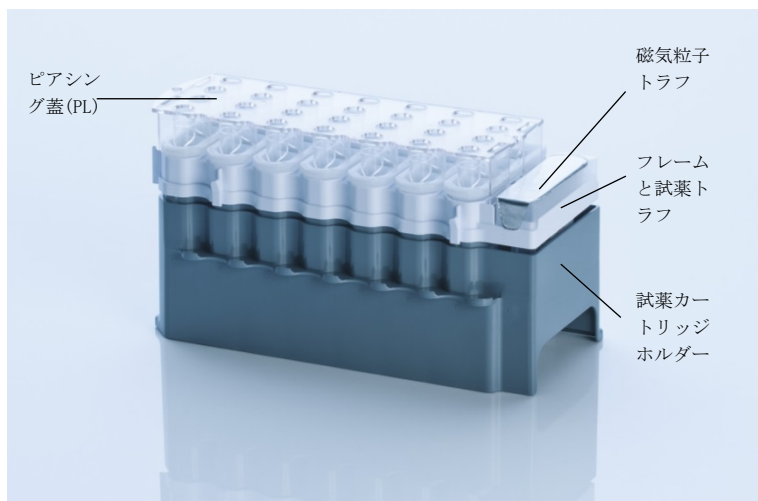
QIAsymphony SPは自動サンプル調製を簡単かつ便利にします。サンプル、試薬、消耗品、溶出液が異なるドロワーに分離されます。ランを行う前にサンプル、特別なカートリッジに入った試薬、ラックに入った消耗品を適切なドロワーにロードします。プロトコルを開始し、処理後に“Eluate”（溶出液）ドロワーから精製DNAを取り出します。操作指示については装置付属のユーザーマニュアルを参照してください。

**注：**オプションのメンテナンスは装置の機能に必須ではありませんが、汚染リスクを少なくするために非常に推奨されます。

利用できるプロトコルの範囲は常に拡大しており、追加のQIAGENプロトコルは無料で [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks) からダウンロードできます。

“Reagents and Consumables”（試薬および消耗品）ドロワーに試薬カートリッジ(RC)をロードします。

DNA精製試薬は革新的な試薬カートリッジ(RC)（図2、13ページ）に入っています。試薬カートリッジ(RC)の各トラフに磁気粒子、結合バッファー、洗浄バッファー、溶出バッファーなど個々の試薬が入っています。一部使用した試薬カートリッジ(RC)は後に再使用するためReuse Seal Strip (RSS)で再び封をし、精製手順の終わりに残った試薬のため廃液が生じることを防ぎます。



**図2. QIAasymphony試薬カートリッジ (RC)** 試薬カートリッジ(RC)にはプロトコールランに必要な試薬がすべて入っています。

手順開始前に、磁気粒子が完全に再懸濁されていることを確認してください。試薬カートリッジフレームから磁気粒子トラフを除去し、最低3分激しくボルテックスし、最初使用する前に試薬カートリッジに移します。

**注：**磁気粒子は変色することがあります。性能には関係がありません。

試薬カートリッジホルダーに試薬カートリッジ(RC)を置きます。試薬カートリッジ(RC)を最初使用する前に、穿孔蓋(PL)を試薬カートリッジ(RC)の上に置きます(図2、above)。

**注：**ピアシング蓋(PL)は鋭くなっています。試薬カートリッジ(RC)に置くときは注意してください。ピアシング蓋(PL)を試薬カートリッジ(RC)の上に正しい向きで置いてあることを確認します。

磁気粒子トラフカバーを取った後、試薬カートリッジ(RC)は次に“Reagents and Consumables”ドロワーにロードします。

一部使用した試薬カートリッジ(RC)は再び使用するまで保存できます (“Reagent Storage and Handling” 10ページを参照)。

**注：**www.qiagen.comの製品ページリソースタブ下にあるプロトコルシートに従ってプロテイナーゼKを加えてください。

**注：**試薬カートリッジ、磁気粒子トラフ、プロテイナーゼKの瓶を異なるキットのロットで入れ替えないようにしてください。

“Reagents and Consumables” ドロワーにプラスチック容器をロードします。

サンプルプレップカートリッジ、8ロッドカバー（両方ユニットボックスにラックされています）、ディスポーザブルフィルターチップ（200  $\mu$ lチップが青いラックに、1500  $\mu$ lチップが黒いラックに入っています）を“Reagents and Consumables” ドロワーにロードします。

**注：**ユニットボックスを“Reagents and Consumables” ドロワーにロードする前にユニットボックスのカバーが外れていることを確認します。

**注：**チップには交差汚染を予防するフィルターがついています。

QIASymphony SPワークテーブル上のチップラックスロットにはチップラックのいずれかが入っています。QIASymphony SPはインベントリスキャンの間にロードされたチップの種類を識別します。

**注：**次のプロトコルランを開始する前に、サンプルプレップカートリッジまたは8ロッドカバーでチップラックまたはユニットボックスに補充をしないでください。QIASymphony SPは一部使用したチップラックおよびユニットボックスを使用できます。

必要な消耗品については、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)の製品ページリソースタブ下にある関連したプロトコールシートを参照してください。プラスチック容器注文情報については、28ページを参照してください。

### “Waste”（廃棄物）ドロワーのロード

ラン中に使用されるサンプルプレップカートリッジおよび8ロッドカバーは“Waste”ドロワーの空のユニットボックスに再ラックされます。“Waste”ドロワーが、プロトコールランの間に生じるプラスチック廃棄物用に十分な空のユニットボックスを含んでいるか確認します。

**注：**ユニットボックスを“Waste”ドロワーにロードする前にユニットボックスのカバーが外れていることを確認します。使用済みサンプルプレップカートリッジおよび8ロッドカバーの収集に8ロッドカバーボックスを使用している場合は、ボックススペーサーが取り外されていることを確認してください。

使用済みフィルターチップ用のバッグを“Waste”ドロワーの前面に取り付けてください。

**注：**チップ廃棄バッグの有無はシステムではチェックを行いません。プロトコールラン開始前にチップ廃棄バッグが適切に取り付けられているか確認します。詳しい情報は、装置付属のユーザーマニュアルを参照してください。チップの最大96サンプルを詰まり回避のため処理した後で、チップバッグを空にします。

廃液タンクは精製手順中に生成した廃液を集めます。“Waste”ドロワーは廃棄物用容器が適切な位置にあるときのみ閉じます。廃液は地域の安全および環境基準に従って廃棄してください。一杯になった廃液ボトルをオートクレーブしないでください。最大96サンプルを処理した後で、廃液ボトルを空にします。

### “Eluate”ドロワーのロード

必要な溶出ラックを“Eluate”ドロワーにロードします。“Eluate”ドロワー内での溶出液の長期保存は蒸発や濃縮につながることもあり、冷却ポジションを使用します。対応し

た冷却アダプターが付いた“Elution slot 1”（溶出スロット1）のみを使用してください。

## インベントリスキャン

ラン開始前に、装置はキューバッチに十分な消耗品がそれぞれのドロワーにロードされているかチェックします。

## サンプル材料の調製

QIASymphony DSP Circulating DNAキットはヒト血漿や尿から循環セルフリーDNAの自動精製を行うよう設計されています（表1、17ページ）。

サンプル内、サンプル上の泡の形成を防いでください。サンプル上の泡は異なるサンプル体積のピペット操作になることがあります。出発物質によって、サンプル前処理が必要です。サンプルはラン開始前に室温(15~25° C)に戻します。

詳しい自動手順（特定のプロトコールで使用できるサンプルチューブの情報を含む）および特定のサンプル前処理については、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)の製品ページリソースタブ下にある関連プロトコールシートを参照してください。

## DNAの保存

サンプル準備後、溶出液は1ヶ月まで2~8°Cで保存できます。長期間の保存については、溶出液は-20°Cまたは-80°Cで保存できます。凍結溶出液は3回以上融解しないでください。



## プロトコール概要

図 1. プロトコール概要

サンプル	サンプル体積 ( $\mu$ l)	溶出体積 ( $\mu$ l)	QIASymphony SPプロトコール
血漿、尿	2000	60	circDNA_2000_DSP
	4000	60	circDNA_4000_DSP

### 開始前の重要点

- QIASymphony SPの操作に慣れていることを確認してください。操作指示については装置付属のユーザーマニュアルを参照してください。
- オプションのメンテナンスは装置の機能に必須ではありませんが、汚染リスクを少なくするために非常に推奨されます。
- 手順開始前に、“Principles of the Procedure”、3ページを参照してください。
- 使用する手順に対応したプロトコールシートを熟知しているか確認してください。プロトコールシートは[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)の製品ページリソースタブ下にあります。
- 試薬カートリッジ(RC)を激しく振ることは避けてください。泡が発生し、液体レベル検出に問題が起きます。
- Buffer ATLを必要とする前処理開始前に、Buffer ATL中に沈殿が生じていないかチェックします。必要であれば、水浴中穏やかに攪拌しながら70° Cで加熱して、沈殿を溶解します。Buffer ATLの表面から泡を吸引します。

### 開始前にすべきこと

- 手順開始前に、磁気粒子が完全に再懸濁されていることを確認してください。一番最初に使用する前に、磁気粒子を含むトラフを最低3分間ボルテックスします。

- ピアシング蓋が試薬カートリッジ上に置いてあるか、磁気粒子トラフの蓋が取り外してあるか、一部使用した試薬カートリッジを使っている場合、Reuse Seal Stripが剥がしてあるかを確認します。
- プロテイナーゼKは試薬カートリッジに含まれていないので、ユーザーが用意してください（サンプルドロワー、スロットA、ポジション1または2、またはその両方）。正しいプロテイナーゼK体積が利用可能なことを確認してください。（詳しい情報については、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)の製品ページリソーススタブ下にあるプロトコールシートを参照してください）
- サンプルにバーコードがついていれば、サンプルをチューブキャリアに向け、バーコードがQIASymphony SP左側のバーコードリーダーに面するようにします。
- 特定のプロトコールに適合するサンプルチューブについては、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)の製品ページリソーススタブ下にある対応した実験器具リストを参照してください。
- 二次チューブの最小サンプル体積についての情報は、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)の製品ページリソーススタブ下にある対応した実験器具リストを参照してください。

## プロトコール：循環セルフリーDNAの精製

以下はQIASymphony DSPキットを使用した一般的なプロトコールです。体積やチューブなどの各プロトコールの詳細情報は、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)の製品ページリソーススタブ下にあるプロトコールシートを参照してください。

1. ドロワーとフードをすべて閉じてください。
2. QIASymphony SPの電源を入れ、**Sample Preparation (サンプル準備)** スクリーンが表示され、初期の手順が完了するまで待ちます。  
電源スイッチは下部の、QIASymphony SP左隅にあります。
3. 装置にログオンします。
4. 必要な溶出ラックを“Eluate”ドロワーにロードします。  
96ウェルプレートを“Elution slot 4”（溶出スロット4）にロードしないでください。対応した冷却アダプターが付いた“Elution slot 1”を使用してください。

96ウェルプレートを使用する際に、プレートの向きが正しいか確認します。正しく置かれていないと、サンプルが下流分析で混合してしまいます。

Elution Microtubes CLラックを使用するときは、底が外れるまでラックをひねって外します。

5. “Waste” ドロワーが適切に準備してあることを確認し、“Waste” ドロワーのインベントリスキャンを、チップシュートおよび廃液を含めて行います。必要な時にはチップ廃棄バッグを交換します。
6. 必要な試薬カートリッジおよび消耗品を“Reagents and Consumables” ドロワーにロードします。
7. “Reagents and Consumables” ドロワーのインベントリスキャンを行います。
8. サンプルを適切なサンプルキャリアに置き、“Sample” (サンプル) ドロワーにロードしてください。
9. タッチスクリーンを用いて、サンプルの各バッチおよび処理するプロテイナーゼKの必要情報を入力します。

次の情報を入力してください。

- サンプル情報 (使用するサンプルラックに応じて)
- ランを行うプロトコール (Assay Control Set (アッセイコントロールセット))
- 溶出体積および溶出ポジション

バッチについての情報を入力した後、ステータスが **LOADED (ロード)** から **QUEUED (キュー)** に変化します。1つのバッチがキューされるとすぐに、**Run (ラン)** ボタンが表示されます。

10. プロテイナーゼKをサンプルキャリアのポジション1または2に置き、“Sample” ドロワーのスロットAにロードしてください。
11. プロテイナーゼKを **IC** ボタンを押して定義してください。
12. **Run** ボタンを押して精製手順を開始してください。

処理ステップは全自動です。プロトコールランの最後に、バッチのステータスが **RUNNING (ラン実行中)** から **COMPLETED (完了)** に変化します。

13. 精製した核酸を含む溶出ラックを“Eluate” ドロワーから取り出します。

14. DNAは使う準備ができていないか、または2~8° C、-20° C、-80° Cで保存できます。

ランが完了したらすぐに “Eluate” ドロワーから溶出液プレートを取り出すことを推奨します。温度や湿度により、ラン完了後もQIASymphony SP内に残った溶出プレートは、濃縮や蒸発を起こすことがあります。

一般的に、磁気粒子は溶出液にキャリーオーバーされません。キャリーオーバーが起こった場合、溶出液中の磁気粒子はほとんどの下流のアプリケーションに影響しません。

磁気粒子を下流のアプリケーションを行う前に除去する必要がある場合、溶出液を含むチューブやプレートを適した磁石内に置き、溶出液を清浄なチューブに移します（“Appendix: Quantification of circulating cell-free DNA”、27ページを参照）。

結果ファイルは各溶出プレートについて生成します。

15. 試薬カートリッジを一部のみ使用した場合、プロトコルランの終わりに付属のReuse Seal Stripで封をし、蒸発を防いでください。

**注：**一部使用した試薬カートリッジ(RC)についての詳しい情報は、“Reagent Storage and Handling”、10ページを参照してください。

16. 使用済みサンプルチューブおよび廃液を、地域の安全基準に従って廃棄してください。

安全情報は “Warnings and Precautions”、8ページを参照してください。

17. QIASymphony SPの洗浄

装置付属のユーザーマニュアルにあるメンテナンス指示に従ってください。チップガードを定期的に洗浄し、交差汚染のリスクを最小限に抑えてください。

18. 装置のドロワーを閉め、QIASymphony SPの電源をOFFにします。

# 品質管理

QIAGENのISO認定Quality Management Systemに従い、QIASymphony DSP Circulating DNA キットの各ロットはあらかじめ定めた規格に対し、一貫した製成品質を保証するよう試験を行います。

# 制限事項

システム性能はヒト血漿や尿からヒト循環セルフリーDNA精製の性能評価研究で確立しています。

実験室で使用するどんな手順に対してもシステム性能をバリデーションするのはユーザーの責任であり、QIAGEN性能評価研究では対応しません。

診断結果への否定的な影響リスクを最小限にするには、下流アプリケーションを適切にコントロールすることが必要です。さらにバリデーションを行う場合、医薬品規制調和国際会議(ICH)のガイドライン、*ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology* が推奨されます。

どのような診断的結果が生じても、他の臨床的または検査知見と組み合わせて解釈してください。

# 記号

以下の表にある記号には、使用説明書で使われている記号が含まれます。



<N>

<N> 反応に十分な試薬を含む



使用者



In vitro診断医療機器



カタログ番号



ロット番号



物質番号 (成分ラベル)



成分 (含まれるもののリスト)



含む (内容)



番号 (バイアル、ボトル)



商品識別コード

Rn

Rは使用説明書（ハンドブック）の改訂を示し、nは改訂番号を示します



温度限界



製造者



使用説明書を参照



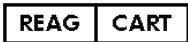
注意



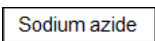
プロテイナーゼK



ウェル番号（すなわち試薬カートリッジウェル）



試薬カートリッジ



アジ化ナトリウム

# トラブルシューティングガイド

本トラブルシューティングガイドは生じる可能性があるあらゆる問題を解決できる可能性があります。連絡先は、裏表紙か [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) を参照してください。

## コメントと提案

---

### 一般的な取り扱い

タッチスクリーンに表示されるエラーメッセージ	エラーメッセージがプロトコール中に表示された場合、装置付属のユーザーマニュアルを参照してください。
------------------------	---

### QIA Symphony DSPキットの開けたカートリッジの試薬トラフ中沈殿

- |                      |  |
|----------------------|--|
| a) バッファの蒸発           | 過剰に蒸発させると、バッファ中の塩濃度が上昇します。試薬カートリッジ (RC) を廃棄します。精製に使わないとき、一部使用した試薬カートリッジ (RC) のバッファトラフを Reuse Seal Strip で封をしてください。 |
| b) 試薬カートリッジ (RC) の保管 | 15° C 以下で試薬カートリッジ (RC) を保管すると、沈殿を生じることがあります。   |

### DNAの低収量

- |                      |   |
|----------------------|---|
| a) 磁気粒子が完全に再懸濁されなかった | 手順開始前に、磁気粒子が完全に再懸濁されていることを確認してください。使用前に最低3分ボルテックスします。 |
|----------------------|---|



## コメントと提案

- b) ピペットチップの不溶物  
質による詰まり
- 不溶物質がQIAsymphony精製手順の開始前に除去されませんでした。
- 必要ならば、前処理手順が述べられている [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページリソースタブ下にある対応プロトコールシートを使用してください。
- c) 低濃度循環セルフリーDNA  
を含むサンプル物質
- 循環セルフリーDNAがサンプル物質にごくわずかしかないので、使用する定量方法によってはDNA濃度を検出できないことも考えられます。
- 溶出液中DNA濃度を調べるには高感度qPCRが推奨されます。
- d) 試薬カートリッジの不完全な再投入
- 一部使用した試薬カートリッジ(RC)では、周囲空気との交換がバッファーの安定性を低下させ、ccfDNA抽出効率が低下することがあります。精製に使わないときは、一部使用した試薬カートリッジ(RC)のバッファートラフをReuse Seal Stripで注意深く封をしてください。
- e) 不安定化尿サンプル中における循環セルフリーDNAの速い分解
- 試料採取後、不安定化尿サンプル中において循環セルフリーDNAの速い分解が起こるため、溶出液中のDNA濃度が検出されないか、低いことが考えられます。対応するプロトコールシートに記載された通り、尿サンプルを安定化させることを推奨します。
- または、対応するプロトコールシートに記載された通り、採取および遠心分離後すぐに対象の尿サンプルにATL前処理を行い、装置でDNA抽出を行います。

## コメントと提案

### サンプル移動がないか、不完全

- a) 間違ったサンプル量をロードした

サンプル体積が2.4 ml以下および4.5 mlをそれぞれロードすると、サンプルが不明確とフラグgingされたり、サンプルが移動できないリスクが高まります（不正なフラグging）。

対応する実験器具リストに記載された通り、正しいサンプル体積をロードします。十分なサンプルが用意できなければ、PBSを加えてサンプルのロード前に必要なサンプル体積にします。

- b) サンプルチューブ内の泡

サンプルチューブまたはサンプル投入チューブ、またはその両方の中の泡は、誤った液体レベル検出とその結果として不完全なサンプル移動という結果になることがあります。サンプルチューブから泡を取り除いてください。

### 装置ラン実施中に泡がチップ上に見える

- サンプル投入量を減らし、FIX実験器具を使用

サンプル体積が2.1 ml以下および4.1 mlをそれぞれFIX実験器具でロードすると、サンプル移動が減少し装置に検出されないリスクが高まります。このためサンプル移動中や次の結合ステップ、またはその両方で泡が形成されることがあります。

FIX実験器具を使用するときは、対応する実験器具リストに記載された通り、正しいサンプル体積をロードします。十分なサンプルが用意できなければ、PBSを加えてサンプルのロード前に必要なサンプル体積にします。

## 付録：循環セルフリーDNAの定量

循環セルフリーDNAがサンプル物質にごく低濃度しかないので、DNAの分光光度計測定は推奨できません。循環セルフリーDNAの濃度決定には、高感度で正確な蛍光ベースの定量アッセイまたはリアルタイムPCRアッセイを用いるべきです。

磁気粒子を取り除く際には、DNAを含んだチューブの内容を、磁気粒子が分離されるまで適した磁気セパレーターにかけます（例：QIAGEN 12-Tube Magnet、カタログ番号36912）。

DNAがマイクロプレートにある場合は、マイクロプレートを磁気粒子が分離されるまで適した磁気セパレーターにかけます（例：QIAGEN 96-Well Magnet Type A、カタログ番号36915）。適した磁気セパレーターが使用できない場合、DNAを含んだチューブを1分間遠心分離し、微量遠心機内で最高速にて残りの磁気粒子をペレットにします。

# 注文情報

製品	内容	カタログ 番号
QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	2試薬カートリッジおよびプロテイナーゼKチューブと付属品	937556
<b>QIASymphony SP</b>		
QIASymphony SP	QIASymphonyサンプルプレップモジュール、部品および動作1年間保証	9001297
<b>関連製品</b>		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	尿サンプル前処理用4 x 50 ml Buffer ATL	939016
Proteinase K (10 ml)	1 x 10 ml ボトル	1105392
Reagent Cartridge Holder (2)	QIASymphony SPで使用する試薬カートリッジホルダー	997008
Cooling Adapter、2 ml、v2、Qsym	2 mlスクリュウキャップチューブ用の冷却アダプター。QIASymphony “Eluate” ドロワーで使用	9020674
Cooling Adapter、EMT、v2、Qsym	EMTラック用冷却アダプターQIASymphony “Eluate” ドロワーで使用	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony、Qsym	Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock チューブ用1.5 ml冷却アダプター。QIASymphony “Eluate” ドロワーで使用	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	QIASymphony SPと併用する8ウェルサンプルプレップカートリッジ	997002
8-Rod Covers (144)	QIASymphony SPで使用する8ロッドカバー	997004

製品	内容	カタログ 番号
Filter-Tips、200 µl (1024)	ディスポーザブルフィルターチップ、ラック (8 x 128). QIAcube® および QIASymphony SP/AS用	990332
Filter-Tips、1500 µl (1024)	ディスポーザブルフィルターチップ、ラック (8 x 128). QIASymphony SP/ASで使用	997024
Tip Disposal Bags (15)	QIASymphony SPで使用するチップ廃棄バッグ	9013395
12-Tube Magnet	12 x 1.5 mlまたは2 mlチューブ入り分離磁気粒子用磁石	36912
96-Well Magnet Type A	96ウェルプレート、2×96Well Microplates FB入り分離磁気粒子用磁石	36915
Reuse Seal Set (20)	一部使用したQIASymphony試薬カートリッジの再使用シールセット	997006
Elution Microtubes CL (24 x 96)	非滅菌ポリプロピレンチューブ(最大容量0.85ml、保存容量0.7ml以下、0.4ml溶出容量)、96のラック中に2304、キャップストリップを含む	19588

最新のライセンス情報および製品固有の免責条項については、各QIAGENキットハンドブックまたはユーザーマニュアルをご覧ください。QIAGENキットハンドブックおよびユーザーマニュアルは[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)、QIAGENテクニカルサービス、お近くの販売業者で入手してください。

本製品の購入で、ヒト in vitro 診断の診断サービス性能を購入者が使用できるようになります。購入により、一般特許またはあらゆる種類の他のライセンスではなく、この特定の使用権のみが与えられます。

登録商標：QIAGEN<sup>®</sup>, Sample to Insight<sup>®</sup>, QIAAsymphony<sup>®</sup>, QIAcube<sup>®</sup> (QIAGEN Group); Eppendorf<sup>®</sup> (Eppendorf AG)。  
本文中の登録名称、登録商標等は、特に記号を付していない場合も、法律で保護されないとは見なされません。

#### **QIAAsymphony DSP Circulating DNAキット限定ライセンス契約**

製品の購入者またはユーザーが本製品を使用すると、以下の契約に同意することを意味します。

1. 製品は製品に付属したプロトコール、本ハンドブックのみに従って使用し、キットに含まれる部品のみを用いて使用するものとします。QIAGENは知的財産のもと、本キットに同梱された部品を本キットに同梱されていない部品と使用し導入するライセンスは与えないものとします。製品と共に提供されたプロトコール、本ハンドブック、www.qiagen.comで入手できる追加プロトコールを除きます。追加プロトコールの一部はQIAGENユーザーがQIAGENユーザーのために提供したものです。かかるプロトコールはQIAGENが徹底的に試験や最適化を行っておりません。QIAGENは提供ユーザーが第三者の権利を侵害していないとは保証いたしません。
2. 明示的なライセンスの他に、QIAGENは本キットまたはその使用、または両方が第三者の権利を侵害していないとは保証いたしません。
3. 本キットおよび部品は1回使用に対してライセンスを受けており、再使用、修理、再販はできません。
4. QIAGENは明示的に規定されている他には、明示の、または黙示の他のライセンスを明確に放棄します。
5. キットの購入者およびユーザーは、上で禁じられているいかなる行為も、それに至るまたは容易にする段階を誰にも取らせたり許可したりしないことを合意するものとします。QIAGENは本限定ライセンス契約にある禁止をどの裁判所でも施行することができます。そして本限定ライセンス契約、またはキットと部品、またはその片方に関連する知的財産権を行使するためのいかなる行為における弁護士費用を含む調査費および裁判費用すべてを回収します。

ライセンス条件の更新は、www.qiagen.com をご覧ください。

HB-2309-002 1103177 157018501 03/2017

© 2017 QIAGEN, all rights reserved.



