

Desember 2020

QIAsymphony[®] SP protokollark

circDNA_2000_DSP_V2 og
circDNA_4000_DSP_V2

Dette dokumentet er QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit-protokollark, versjon 2, R1

Generell informasjon

Til in vitro-diagnostisk bruk.

Denne protokollen gjelder rensing av humant sirkulerende cellefritt DNA fra ferskt eller fryst humant plasma og urin ved hjelp av QIASymphony SP og QIASymphony DSP Circulating DNA Kit.

Sett	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (kat.nr. 937556)	
Prøvemateriale	Humant plasma: EDTA eller citrat som er anti-koagulert eller ccfDNA-stabilisert Human urin: ikke-stabilisert eller stabilisert	
Protokollnavn	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
Standard analysekontrollsett	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
Elueringsvolum	60 µl	60 µl
Nødvendig programvareversjon	Versjon 4.0 eller høyere	Versjon 5.0 eller høyere

Skuffen "Sample" (Prøve)

Prøvetype	Humant plasma (se "Klargjøring av prøvematerialer") og human urin (stabilisert eller ikke-stabilisert)
Prøvevolum	Avhenger av hvilken type prøverør som brukes Du finner mer informasjon i listen over laboratoriestyr. Du finner listen under fanen for ressurser på produktsiden til www.qiagen.com .
Primære prøverør	I/R
Sekundære prøverør	Du finner mer informasjon i listen over laboratoriestyr. Du finner listen under fanen for ressurser på produktsiden til www.qiagen.com .
Innlegg	I/R
Annet	Proteinase K må tilsettes i spor A (posisjon 1 og/eller 2)

n/a = ikke relevant.

Klargjøring av proteinase K i skuffen "Sample" (Prøve)

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit inneholder ferdigblandet proteinase K-oppløsning som kan oppbevares ved romtemperatur (15–25 °C).

Merk: Rør som inneholder proteinase K, plasseres i en rørholder. Rør som inneholder proteinase K, skal plasseres i posisjon 1 og/eller 2 i spor A i skuffen "Sample" (Prøve). Se i listen over laboratoriestyr for ønsket rørtype. Du finner listen under fanen for ressurser på produktsiden til www.qiagen.com.

Antall prøver*	circDNA_2000_DSP	circDNA_4000_DSP
8	1980 µl	2860 µl
24	3740 µl	6380 µl
48	6380 µl	11 660 µl
72	9020 µl	18 040 µl†
96	11 660 µl	23 320 µl†

* For hver prøve må du bruke 110 µl for circDNA_2000_DSP eller 220 µl for circDNA_4000_DSP i tillegg til et ekstra dødvolum på 1100 µl [(n x 110 eller 220 µl) + 1100 µl].

† For circDNA_4000_DSP: Hvis mer enn 48 prøver behandles, må et ekstra rør tas i bruk. Maks innlastingsvolum per rør er 11 660 µl. Til det andre røret kreves et ekstra dødvolum på 1100 µl.

Skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbruksvarer)

Posisjon A1 og/eller A2	Reagenskasset
Posisjon B1	I/R
Spisstativholder 1–18	Engangsfilterspisser, 200 µl eller 1500 µl
Enhetsbokholder 1–4	Enhetsbokser inneholder prøveklargjøringskassetter eller 8-Rod Covers

n/a = ikke relevant.

Skuffen "Waste" (Avfall)

Enhetsbokholder 1–4	Tomme enhetsbokser
Avfallsposeholder	Avfallspose
Holder for væskeavfallsflaske	Tom væskeavfallsflaske

Skuffen "Eluate" (Eluat)

Elueringsstativ (bruk av åpning 1, nedkjølingsposisjon, er anbefalt)	Du finner mer informasjon i listen over laboratoriestyr. Du finner listen under fanen for ressurser på produksiden til www.qiagen.com .
--	---

Nødvendige plastdeler

Protocol circDNA_2000_DSP

Plastdeler	Ett parti 24 prøver*	To partier 48 prøver*	Tre partier 72 prøver*	Fire partier 96 prøver*
Engangsfilterspisser, 200 µl†‡	28	56	84	112
Engangsfilterspisser, 1500 µl†‡	56	112	168	224
Prøveklargjøringskassetter§	15	30	45	60
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Bruk av mindre enn 24 prøver per parti reduserer antallet filterspisser til engangsbruk som kreves per kjøring.

† Det finnes 32 filterspisser/filterspisstativ.

‡ Antall nødvendige filterspisser inkluderer filterspisser for 1 inventarskanning per reagenskasset.

§ Det finnes 28 prøveklargjøringskassetter/enhetsboks.

¶ Det finnes tolv 8-Rod Covers / enhetsboks.

Protocol circDNA_4000_DSP

Plastdeler	Ett parti 24 prøver*	To partier 48 prøver*	Tre partier 72 prøver*	Fire partier 96 prøver*
Engangsfilterspisser, 200 µl†	28	56	84	112
Engangsfilterspisser, 1500 µl†	96	192	288	384
Prøveklargjøringskassetter [‡]	18	36	54	72
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Bruk av mindre enn 24 prøver per parti reduserer antallet filterspisser til engangsbruk som kreves per kjøring.

† Det finnes 32 filterspisser/filterspisstativ.

‡ Antall nødvendige filterspisser inkluderer filterspisser for 1 inventarskanning per reagenskasset.

§ Det finnes 28 prøveklargjøringskassetter/enhetsboks.

¶ Det finnes tolv 8-Rod Covers / enhetsboks.

Merk: Antall angitte filterspisser kan avvike fra antallene vist på berøringsskjermen avhengig av innstillinger. Det er anbefalt å sette inn maksimalt antall mulige spisser.

Elueringsvolum

Valgt elueringsvolum	Innledende elueringsvolum
60 µl	75 µl

Elueringsvolumet velges på berøringsskjermen. Gjennomsnittlig tilgjengelig elueringsvolum er ≥ 60 µl. I enkelttilfeller kan det endelige elueringsvolumet for enkeltprøver være opptil 5 µl mindre enn det valgte volumet (f.eks. 55 µl). Det er anbefalt å kontrollere det faktiske elueringsvolumet ved bruk av et automatisk analyseoppsettssystem som ikke verifiserer elueringsvolumet før overføringen.

Lagring av eluater

Det er anbefalt at elueringsplaten fjernes fra skuffen "Eluate" (Eluat) umiddelbart etter at kjøringen er ferdig. Elueringsplater kan stå igjen i QIASymphony SP etter at kjøringen er fullført over natten (maksimalt 16 timer inkludert kjøretid med følgende anbefalte miljøbetingelser: 18–26 °C og 20–75 % relativ fuktighet). Avhengig av temperatur og fuktighet kan eluatet bli utsatt for kondens eller damp.

Eluatene kan oppbevares ved 2–8 °C i opptil 1 måned etter prøveklargjøring. Ved langtidsoppbevaring kan eluatene oppbevares ved –30 til –15 °C eller –90 til –65 °C. Fryste eluater må ikke tines mer enn 3 ganger.

Klargjøring av prøvematerialer

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller under arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablad (Safety Data Sheets, SDS) som leveres av leverandøren av produktet, hvis du ønsker mer informasjon.

Viktige punkter før du starter

- Forhindre dannelse av skum i eller på prøvene.
- Prøver skal romtempereres (15–25 °C) før kjøringen startes.

Humant plasma

Blodprøver behandlet med EDTA eller citrat som antikoagulerende middel kan brukes til klargjøring av plasma. Plasma fremstilt fra stabilisert ccfDNA i blod på prøvetakingsrør kan også brukes. Plasma genereres som spesifisert av produsenten.

Det er anbefalt å utføre plasmaseparasjon umiddelbart etter bloddonasjon når du bruker EDTA eller citrat som antikoagulant.

For visse nedstrømsanvendelser kan det være nødvendig å ekskludere eller minimere nukleinsyrer fra vesikler. I slike tilfeller anbefales det å utføre et sentrifugeringstrinn med høy hastighet ved 16 000 x g i 10 minutter ved romtemperatur (15–25 °C) etter den første plasmaproduksjonen.

Etter prøvetaking og sentrifugering kan plasma oppbevares ved romtemperatur i opptil 7 dager og ved 2–8 °C i opptil 14 dager. Ved lengre lagring er det anbefalt å fryse alikvoter ved –20 °C eller –80 °C. Fryst plasma må ikke tines mer enn 3 ganger. Gjentatt frysing/tining fører til denaturering og utfelling av proteiner, noe som kan føre til reduserte utbytter av sirkulerende cellefrie nukleinsyrer. Hvis kryopresipitater er synlige i prøvene, skal de sentrifugeres ved 6800 x g i 3 minutter ved romtemperatur (15–25 °C) og supernatantene overføres, uten å forstyrre pelletene, til et sekundært prøverør (se i listen over laboratoriestyr under fanen for ressurser på produktsiden til www.qiagen.com). Start renseprosedyren umiddelbart.

Human urin

På grunn av rask degradering av sirkulerende cellefritt DNA etter urinprøvetaking, er det sterkt anbefalt å stabilisere urinprøver umiddelbart.

Stabilisert human urin

Stabilisert urin kan oppbevares ved romtemperatur (15–25 °C) eller ved 2–8 °C i opptil 7 dager. For lengre oppbevaring anbefaler vi å fryse alikvoter ved –30 °C til –15 °C eller –90 °C til –65 °C.

Stabiliserte urinprøver krever ingen forhåndsbehandling av prøven. Etter stabilisering er det anbefalt å sentrifugere urinprøver ved lav hastighet (1900 x g) i 10 minutter ved romtemperatur (15–25 °C) for å fjerne celler før ekstraksjon av sirkulerende cellefritt DNA. Hvis presipitater er synlige i supernatanter etter sentrifugering, må prøvene varmes opp til 25 °C i et vannbad for å oppløse presipitater. Før oppstart av en kjøring må de stabiliserte urinprøvene overføres til et sekundært prøverør. Legg deretter røret i prøveholderen (se i listen over laboratoriestyr under fanen for ressurser på produktsiden til www.qiagen.com).

"Ikke-stabilisert" human urin

Før du starter en protokoll som krever Buffer ATL, må du kontrollere om presipitat er dannet i Buffer ATL. Ved behov, løs opp ved å varme opp ved 70 °C med forsiktig rysting i et vannbad. Aspirer bobler fra overflaten av Buffer ATL.

Merk: Buffer ATL (Buffer ATL, 4 x 50 ml, kat.-nr. 939016) er ikke en del av QIASymphony DSP Circulating DNA Kit og må bestilles separat.

Det er anbefalt å sentrifuge urinprøver ved lav hastighet (1900 x g) i 10 minutter ved romtemperatur (15–25 °C) umiddelbart etter prøvetaking for å fjerne celler. Ikke-stabiliserte urinprøver krever forhåndsbehandling av prøven.

Viktig: Ekvilibrer prøver til romtemperatur (15–25 °C) før forhåndsbehandlingen starter.

Viktig: Sentrifugering og forhåndsbehandling skal utføres innen 4 timer etter urinprøvetaking.

- Bland 2500 µl urin (circDNA_2000_DSP) eller 4500 µl urin (circDNA_4000_DSP) med hhv. 250 µl eller 450 µl Buffer ATL.
- Inkuber prøvene i romtemperatur (15–25 °C) i 1 time.
- Sentrifuger prøvene ved 1900 x g i 10 minutter ved romtemperatur (15–25 °C).
Hvis presipitater er synlige i supernatanten etter sentrifugering, må prøvene varmes opp til 25 °C i et vannbad for å oppløse presipitater.
- Overfør supernatantene til et sekundært prøverør. Legg deretter røret i prøveholderen (se i listen over laboratoriestyr under fanen for ressurser på produktsiden til www.qiagen.com)

Viktig: Stabiliteten og integriteten til sirkulerende cellefritt DNA er begrenset i ikke-stabilisert urin. Det anbefales å legge inn maks ett parti med 24 prøver per QIASymphony-kjøring for å minimere tiden urinprøvene må være i systemet.

Interfererende stoffer

Plasmaprøver med høye konsentrasjoner av gammaglobulin (>30 g/l) kan føre til redusert gjenoppretting av sirkulerende cellefritt DNA.

Endringshistorikk

Dato	Endringer
Versjon 2, R1 Desember 2020	Første versjon.

Hvis du ønsker oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, kan du se i den aktuelle håndboken for QIAGEN-settet eller i bruksanvisningen. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN Kit er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan leveres fra QIAGENs tekniske serviceavdeling eller den lokale distributøren.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke anses som ubeskyttet ved lov selv når de ikke er spesielt merket som sådan.

12/2020 HB-2309-S02-001 © 2020 QIAGEN. Med enerett.

Bestilling www.qiagen.com/shop | Teknisk støtte support.qiagen.com | Nettside www.qiagen.com