

2020年12月

QIASymphony[®] SP

プロトコールシート

circDNA_2000_DSP_V2 および
circDNA_4000_DSP_V2

本文書は、QIASymphony DSP Circulating DNA Kit プロトコールシート（バージョン2、R1）です。

全般情報

体外診断用です。

このプロトコールは、QIAsymphony SP と QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit を使用し、ヒトの新鮮血漿/凍結血漿と尿からヒトの循環細胞フリーDNA を精製するためのものです。

キット	QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit (カタログ番号: 937556)	
サンプル材料	ヒト血漿: EDTA またはクエン酸の抗凝固、または ccfDNA の安定化 ヒト尿: 非安定化または安定化	
プロトコール名	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
デフォルトのアッセイコントロールセット	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
溶出量	60 µl	60 µl
必要なソフトウェアバージョン	バージョン 4.0 以降	バージョン 5.0 以降

「Sample」 (サンプル) ボックス

サンプルのタイプ	ヒト血漿 (「サンプル材料の調製」を参照) および ヒト尿 (安定化または非安定化)
サンプル量	使用するサンプルチューブのタイプにより異なります。 詳細は、 www.qiagen.com の製品ページのリソースタブに記載されている実験器具リストをご覧ください。
一次サンプルチューブ	n/a
二次サンプルチューブ	詳細は、 www.qiagen.com の製品ページのリソースタブに記載されている実験器具リストをご覧ください。
インサート	n/a
その他	プロテイナーゼ K は、スロット A の位置 1 または 2 (あるいは両方) に 添加する必要があります。

n/a = 該当せず。

「Sample」 (サンプル) ボックスでのプロテイナーゼ K の調製

QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit には、室温 (15~25°C) で保管可能なすぐに使えるプロテイナーゼ K 溶液が含まれています。

注: プロテイナーゼ K を入れたチューブをチューブキャリアに配置します。プロテイナーゼ K を入れたチューブは、「Sample」 (サンプル) ボックスのスロット A の位置 1 または 2 (あるいは両方) に配置する必要があります。必要なチューブのタイプについては、www.qiagen.com の製品ページのリソースタブに記載されている実験器具リストをご覧ください。

サンプル数*	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†

* circDNA_2000_DSP では 110 µl、circDNA_4000_DSP では 220 µl が各サンプルに必要です。さらに 1100 µl [(n x 110 µl または 220 µl) + 1100 µl] の空隙量が必要です。

† circDNA_4000_DSP の場合：48 を超えるサンプルを処理する場合は、2 本目のチューブを使用してください。チューブ 1 本当たりの最大充填量は 11.660 µl です。2 本目のチューブには、1100 µl の空隙量がさらに必要です。

「Reagents and Consumables」 (試薬および消耗品) ボックス

位置 A1 または A2 (あるいは両方)	試薬カートリッジ
位置 B1	n/a
チップラックホルダー1~18	使い捨てフィルターチップ、200 µl または 1500 µl
ユニットボックスホルダー1~4	サンプル調製カートリッジまたは 8-Rod Covers が格納されたユニットボックス

n/a = 該当せず。

「Waste」 (廃棄物) ボックス

ユニットボックスホルダー1~4	空のユニットボックス
廃棄物バッグホルダー	廃棄物バッグ
廃液ボトルホルダー	空の廃液ボトル

「Eluate」 (溶出液) ボックス

溶出ラック (冷却ポジションであるスロット 1 の使用を推奨)	詳細は、 www.qiagen.com の製品ページのリソースタブに記載されている実験器具リストをご覧ください。
---------------------------------	--

必要なプラスチック製品

プロトコール circDNA_2000_DSP

プラスチック製品	1つのバッチ 24 サンプル*	2つのバッチ 48 サンプル*	3つのバッチ 72 サンプル*	4つのバッチ 96 サンプル*
使い捨てフィルターチップ、 200 µl [†] ‡	28	56	84	112
使い捨てフィルターチップ、 1500 µl [†] ‡	56	112	168	224
サンプル調製カートリッジ [§]	15	30	45	60
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* 各バッチで使用するサンプル数が24より少ない場合は、1回の分析に必要な使い捨てのフィルターチップの数が少なくて済みます。

† 1つのフィルターチップラックに32個のフィルターチップが入っています。

‡ 必要なフィルターチップの数には、1つの試薬カートリッジに対して在庫スキャンを1回行うのに必要なフィルターチップが含まれています。

§ 1つのユニットボックスに28個のサンプル調製カートリッジが入っています。

¶ 1つのユニットボックスに12個の8-Rod Coversが入っています。

プロトコール circDNA_4000_DSP

プラスチック製品	1つのバッチ 24 サンプル*	2つのバッチ 48 サンプル*	3つのバッチ 72 サンプル*	4つのバッチ 96 サンプル*
使い捨てフィルターチップ、 200 µl [†] ‡	28	56	84	112
使い捨てフィルターチップ、 1500 µl [†] ‡	96	192	288	384
サンプル調製カートリッジ [§]	18	36	54	72
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* 各バッチで使用するサンプル数が24より少ない場合は、1回の分析に必要な使い捨てのフィルターチップの数が少なくて済みます。

† 1つのフィルターチップラックに32個のフィルターチップが入っています。

‡ 必要なフィルターチップの数には、1つの試薬カートリッジに対して在庫スキャンを1回行うのに必要なフィルターチップが含まれています。

§ 1つのユニットボックスに28個のサンプル調製カートリッジが入っています。

¶ 1つのユニットボックスに12個の8-Rod Coversが入っています。

注：設定によっては、支給されたフィルターチップの数がタッチスクリーンの表示数と異なる場合があります。最大数のチップをロードすることをお勧めします。

溶出量

選択溶出量	初回溶出量
60 μ l	75 μ l

溶出量はタッチスクリーンで選択します。使用可能な平均溶出量は 60 μ l 以上です。単一サンプルの最終溶出量は、それぞれの場合において、選択した量よりも最大 5 μ l 少ない量 (55 μ l など) になる場合があります。自動アッセイセットアップシステムを使用する場合は、移動前に溶出量が検証されないため、実際の溶出量を確認することをお勧めします。

溶出液の保管

分析が終了した直ちに、「Eluate」（溶出液）ボックスから溶出プレートを取り外すことをお勧めします。分析の完了に一晩かかると（分析時間を含めて最長 16 時間、推奨環境条件：温度 18~26°C、相対湿度 20~75%）、溶出プレートが QIASymphony SP に残る場合があります。温度と湿度によっては、溶出により結露や蒸着が発生することがあります。

サンプル調製後、溶出液は 2~8°C で最長 1 カ月間保管できます。それより長く保管する場合は、-30~-15°C または -90~-65°C で溶出液を保管します。冷凍した溶出液は 3 回を超えて解凍しないでください。

サンプル材料の調製

薬品を取り扱う際には、適切な白衣、使い捨て手袋、保護メガネを必ず着用してください。詳細は、製品の供給元が提供する適切な安全データシート（Safety Data Sheet, SDS）を参照してください。

はじめる前の重要な留意点

- サンプル中またはサンプル上に泡が発生しないようにしてください。
- 分析を開始する前には、サンプルの温度を室温（15~25°C）にする必要があります。

ヒト血漿

血漿の調製には、抗凝固剤として EDTA やクエン酸を使用して処理した血液サンプルを使用できます。ccfDNA 安定化採血チューブから調製した血漿も使用可能です。血漿は、メーカーの指示に従い生成します。

抗凝固剤として EDTA またはクエン酸を使用する場合は、採血後ただちに血漿分離を行うことをお勧めします。

一部のダウンストリームアプリケーションでは、小胞から核酸を取り除くか、最小限に抑える必要がある場合があります。そのような場合は、初回の血漿生成後に、高速遠心分離を室温（15～25℃）、16,000 x g で 10 分間行うことをお勧めします。

血漿は、採取と遠心分離の後、室温で最長 7 日間、2～8℃ で 14 日間保管できます。それより長く保管する場合は、アリコートに-20℃ または-80℃ で冷凍することをお勧めします。冷凍した血漿は 3 回を超えて解凍しないでください。冷凍と解凍を繰り返すと、タンパク質が変性および沈殿し、循環細胞フリーDNA の収量が減る可能性があります。サンプルにクリオプレシピテートが見られる場合は、遠心分離を室温（15～25℃）、6,800 x g で 3 分間行い、ペレットを乱さずに上清を二次サンプルチューブに移してください（www.qiagen.com の製品ページのリソースタブに記載されている実験器具リストを参照）。ただちに精製を始めてください。

ヒト尿

尿の採取後、循環細胞フリーDNA が急速に劣化するため、尿サンプルをただちに安定化させることを強くお勧めします。

安定化ヒト尿

安定化尿は室温（15～25℃）または 2～8℃ で最長 7 日間保管できる場合があります。それより長く保管する場合は、アリコートに-30～-15℃ または-90～-65℃ で冷凍することをお勧めします。

安定化尿サンプルに前処理は不要です。安定化後の尿サンプルに対しては、遠心分離を室温（15～25℃）、低速（1900 x g）で 10 分間行い、細胞を取り除いてから循環細胞フリーDNA を抽出することをお勧めします。遠心分離後に上清に沈殿物が見られる場合は、サンプルをウォーターバスに入れて 25℃ に温め、沈殿物を溶解させてください。分析を始める前に、安定化尿サンプルを二次サンプルチューブに移し、このチューブをサンプルキャリアにロードしてください（www.qiagen.com の製品ページのリソースタブに記載されている実験器具リストを参照）。

「非安定化」ヒト尿

Buffer ATL が必要なプロトコルを始める前には、Buffer ATL に沈殿物があるかどうかを確認してください。必要であれば、ウォーターバスに入れて 70℃ で加熱し、ゆっくりとかき混ぜて溶解させてください。Buffer ATL の表面から気泡を吸引してください。

注： Buffer ATL (Buffer ATL、4 x 50 ml、カタログ番号：939016) は QIASymphony DSP Circulating DNA Kit に同梱されていないため、別に注文する必要があります。

採取後の尿サンプルに対しては、ただちに遠心分離を室温（15～25℃）、低速（1900 x g）で 10 分間行い、細胞を取り除くことをお勧めします。非安定化尿サンプルには前処理が必要です。

重要：前処理を始める前には、サンプルの温度を室温（15～25℃）にしてください。

重要：遠心分離と前処理は、尿サンプル採取後 4 時間以内に行う必要があります。

- 2500 μ l の尿（circDNA_2000_DSP）と 250 μ l の Buffer ATL、または 4500 μ l の尿（circDNA_4000_DSP）と 450 μ l の Buffer ATL を混和します。
- サンプルを室温（15～25℃）で 1 時間インキュベートします。
- サンプルに対して遠心分離を室温（15～25℃）、1900 x g で 10 分間行います。
遠心分離後に上清に沈殿物が見られる場合は、サンプルをウォーターバスに入れて 25℃ に温め、沈殿物を溶解させてください。
- 上清を二次サンプルチューブに移し、このチューブをサンプルキャリアにロードします
（www.qiagen.com の製品ページのリソースタブに記載されている実験器具リストを参照）。

重要：非安定化尿では、循環細胞フリーDNA の安定性と完全性が限定的です。尿サンプルの装置稼働時間を最短にするためには、1 回の QIAasympyphony 分析で、できるだけ多くのサンプルを 1 つのバッチ（24 のサンプルを構成可）にロードすることをお勧めします。

妨害物質

血漿サンプルのガンマグロブリン濃度が高いと（>30 g/l）、循環細胞フリーDNA の回収量が減る可能性があります。

改訂履歴

日付	変更
バージョン 2、R1 2020 年 12 月	初版公開。

ライセンスに関する最新情報や製品に固有の免責事項については、該当する QIAGEN キットの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 キットのハンドブックとユーザーマニュアルは、弊社ウェブサイト（www.qiagen.com）から入手できます。QIAGEN テクニカルサービスや最寄りの代理店でも入手可能です。

商標：QIAGEN®、Sample to Insight®、QIASymphony®（QIAGEN Group）。本文中で使用されている登録済みの名称、商標などは、具体的な表示がない場合であっても、法的保護の対象から外れることはありません。

12/2020 HB-2309-S02-001 © 2020 QIAGEN、無断複写・転載を禁じます。

注文 www.qiagen.com/shop | テクニカルサポート support.qiagen.com | ウェブサイト www.qiagen.com