

December 2020

QIAsymphony[®] SP-protokollblad

circDNA_2000_DSP_V2 och
circDNA_4000_DSP_V2

Detta dokument är QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit-protokollblad, version 2, R1

Allmän information

För in vitro-diagnostisk användning.

Detta protokoll är avsett för rening av humant cirkulerande cellfritt DNA från färskt eller fryst humant plasma och urin med användning av QIASymphony SP och QIASymphony DSP Circulating DNA Kit.

Kit	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (kat.nr 937556)	
Provmaterial	Human plasma: EDTA eller citrat anti-koagulerat eller ccfDNA-stabiliserat Human urin: icke-stabiliserat eller stabiliserat	
Protokollnamn	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
Förvald analyskontrolluppsättning	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
Elueringsvolym	60 µL	60 µL
Nödvändig programversion	Version 4.0 eller senare	Version 5.0 eller senare

Lådan "Sample" (prov)

Provtyp	Human plasma (se "Förberedelse av provmaterial") och Human urin (stabiliserat eller icke-stabiliserat)
Provolym	Beror på typ av provrör som används Mer information finns i labbmateriellistan, som finns i resursfliken på produkt sidan på www.qiagen.com .
Primära provrör	Ej relevant
Sekundära provrör	Mer information finns i labbmateriellistan, som finns i resursfliken på produkt sidan på www.qiagen.com .
Insatser	Ej relevant
Övrigt	Proteinas K måste fyllas på i fack A (position 1 och/eller 2)

n/a = ej relevant.

Förberedelse av proteinas K i lådan "Sample" (prov)

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit innehåller bruksfärdig proteinas K-lösning som kan förvaras i rumstemperatur (15–25 °C).

Obs! Provrör innehållandes proteinas K placeras i en provrörshållare. Provrören med proteinas K måste placeras i positionerna 1 och/eller 2 i fack A på lådan "Sample" (prov). Provrörstyp som behövs visas i labbmateriellistan, som finns i resursfliken på produkt sidan på www.qiagen.com.

Antal prover*	circDNA_2000_DSP	circDNA_4000_DSP
8	1 980 µL	2 860 µL
24	3 740 µL	6 380 µL
48	6 380 µL	11,660 µL
72	9 020 µL	18,040 µL [†]
96	11,660 µL	23,320 µL [†]

* För varje prov behövs 110 µL för circDNA_2000_DSP eller 220 µL för circDNA_4000_DSP, plus en extra tom volym på 1 100 µL [(n x 110 eller 220 µL) + 1 100 µL].

[†] För circDNA_4000_DSP: Om fler än 48 prover ska bearbetas använder du ett andra rör. Maximal provladdningsvolym per rör är 11,660 µL. För det andra röret behövs ytterligare en tom volym på 1 100 µL.

Lådan "Reagents and Consumables" (reagens och förbrukningsmaterial)

Position A1 och/eller A2	Reagenskasset
Position B1	Ej relevant
Spetsrackhållare 1-18	Engångsfilterspetsar, 200 µL or 1500 µL
Hållare för enhetslådor 1-4	Enhetslådor som innehåller provprepareringskassetter eller 8-Rod Covers

n/a = ej relevant.

Lådan "Waste" (avfall)

Hållare för enhetslådor 1-4	Tomma enhetslådor
Avfallspåhållare	Avfallspåse
Hållare för flaska för flytande avfall	Tom flaska för flytande avfall

Lådan "Eluate" (eluat)

Elueringsställ (vi rekommenderar att du använder fack 1, kylpositionen)	Mer information finns i labbmateriellistan, som finns i resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com .
--	--

Erforderliga plastartiklar

Protokoll circDNA_2000_DSP

Plastartiklar	En batch 24 prover*	Två batcher 48 prover*	Tre batcher 72 prover*	Fyra batcher 96 prover*
Engångsfilterspetsar, 200 µL ^{†‡}	28	56	84	112
Engångsfilterspetsar, 1500 µL ^{†‡}	56	112	168	224
Provprepareringskassetter [§]	15	30	45	60
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Om färre än 24 prover per batch används minskas antalet engångsfilterspetsar som krävs per körning.

[†] Det finns 32 filterspetsar/filterspetsställ.

[‡] Antalet filterspetsar som krävs inbegriper filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenskasset.

[§] Det finns 28 provberedningskassetter/enhetslåda.

[¶] Det finns tolv 8-Rod Covers/enhetslåda.

Protokoll circDNA_4000_DSP

Plastartiklar	En batch 24 prover*	Två batcher 48 prover*	Tre batcher 72 prover*	Fyra batcher 96 prover*
Engångsfilterspetsar, 200 µL [†]	28	56	84	112
Engångsfilterspetsar, 1500 µL ^{†‡}	96	192	288	384
Provprepareringskassetter [§]	18	36	54	72
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Om färre än 24 prover per batch används minskas antalet engångsfilterspetsar som krävs per körning.

[†] Det finns 32 filterspetsar/filterspetsställ.

[‡] Antalet filterspetsar som krävs inbegriper filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenskasset.

[§] Det finns 28 provberedningskassetter/enhetslåda.

[¶] Det finns tolv 8-Rod Covers/enhetslåda.

Obs! Beroende på inställningarna kan antalet givna filterspetsar skilja sig från de siffror som visas på pekskärmen. Vi rekommenderar att det maximala antalet spetsar laddas.

Elueringsvolym

Vald elueringsvolym	Initial elueringsvolym
60 µl	75 µl

Elueringsvolymen väljs på pekskärmen. Genomsnittlig tillgänglig elueringsvolym är ≥ 60 µL. I enskilda fall kan slutlig eluatvolym för enskilda prover vara upp till 5 µL mindre än den valda volymen (t.ex. 55 µL). Vi rekommenderar att du kontrollerar den faktiska eluatvolymen vid användning av ett automatiserat analysinställningssystem som inte verifierar eluatvolymen innan överföringen.

Förvaring av eluat

Vi rekommenderar att du tar ut eluatplattan från lådan "Eluate" (eluat) omedelbart efter att körningen är slutförd. Elueringsplattor kan lämnas kvar i QIASymphony SP när körningen slutförs på natten (maximalt 16 timmar inklusive körningstiden; rekommenderade miljöförhållanden: 18–26 °C och 20–75 % relativ luftfuktighet). Beroende på temperatur och luftfuktighet kan eluat kondensera eller avdunsta.

Efter provberedning kan eluat förvaras i 2–8 °C i upp till 1 månad. Eluat kan förvaras i –30 °C till –15 °C eller i –90 °C till –65 °C om förvaring under lång tid krävs. Fryst eluat får inte tinas upp mer än 3 gånger.

Förberedelse av provmaterial

Använd alltid laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Mer information finns i tillämpliga säkerhetsdatablad (Safety Data Sheets, SDS) som kan erhållas av respektive tillverkare.

Viktigt att tänka på före start

- Undvik skumbildning i eller på proven.
- Prover måste uppnå rumstemperatur (15–25 °C) innan du startar körningen.

Human plasma

Blodprover som behandlats med EDTA eller citrat som antikoagulantia kan användas för plasmapreparering. Plasma förberedd från ccfDNA-stabiliserade blodprovtagningsrör kan också användas. Plasma genereras enligt tillverkarens specifikationer.

Vi rekommenderar att separation av plasma genomförs omedelbart efter bloddonationen när EDTA eller citrat används som antikoagulant.

För vissa underordnade tillämpningar kan det hända att vissa nukleinsyror måste exkluderas eller minimeras från vesiklar. I sådana fall rekommenderar vi att genomföra ett centrifugeringssteg med hög hastighet i 16 000 x g i 10 minuter i rumstemperatur (15–25 °C) efter initial plasmageneration.

Efter provtagning och centrifugering kan plasma förvaras i rumstemperatur i upp till 7 dagar eller vid 2–8 °C i upp till 14 dagar. För längre förvaring rekommenderar vi frysning av alikvoter vid –20 °C eller –80 °C. Fryst plasma får inte tinas upp mer än 3 gånger. Upprepad frysning och tining leder till denaturering och precipitat av proteiner, vilket potentiellt sett kan resultera i minskat utbyte av cirkulerande cellfria nukleinsyror. Om kryoprecipitat syns i proven rekommenderas centrifugering vid 6 800 x g i 3 minuter vid rumstemperatur (15–25 °C) och överföring av supernatanter till ett sekundärt provrör utan att rubba pelleterna (se labbmateriellista, som kan hittas i resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com). Starta reningsproceduren omedelbart.

Human urin

På grund av snabb nedbrytning av cirkulerande cellfritt DNA efter urininsamling rekommenderas det att urinprover stabiliseras omedelbart.

Stabiliserat human urin

Stabiliserat urin kan förvaras i rumstemperatur (15–25 °C) eller vid 2–8 °C i upp till 7 dagar. För längre förvaring rekommenderar vi frysning av alikvoter vid –30 °C till –15 °C eller –90 °C till –65 °C.

Stabiliserade urinprover behöver ingen provförbehandling. Efter stabilisering rekommenderar vi att urinprover centrifugeras vid låg hastighet (1 900 x g) i 10 minuter i rumstemperatur (15–25 °C) för att avlägsna celler före extrahering av cirkulerande cellfritt DNA. Om precipitat är synliga i supernatanter efter centrifugering ska proverna värmas till 25 °C i ett vattenbad för att lösa upp precipitaterna. Innan en körning startas ska stabiliserade urinprover överföras till ett sekundärt provrör och det här röret ska sedan laddas i en provhållare (se labbmateriellista, som finns i resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com).

Icke-stabiliserat human urin

Innan du startar ett protokoll som kräver Buffer ATL kontrollerar du att det inte har bildats ett precipitat i Buffer ATL. Vid behov kan du lösa upp precipitatet genom upphettning vid 70 °C med försiktig omskakning i ett vattenbad. Aspirera bubblor från ytan på Buffer ATL.

Obs! Buffer ATL (Buffer ATL, 4 x 50 ml, kat.nr 939016) är inte en del av QIASymphony DSP Circulating DNA Kit och måste beställas separat.

Vi rekommenderar att urinprover centrifugeras omedelbart efter provtagning vid låg hastighet (1 900 x g) i 10 minuter i rumstemperatur (15–25 °C) för att avlägsna celler. Icke-stabiliserade urinprover behöver provförbehandling.

Viktigt: Ekvilibrera proverna till rumstemperatur (15–25 °C) innan förbehandlingen startas.

Viktigt: Centrifugering och förbehandling ska genomföras inom 4 timmar av urinprovtagningen.

- Blanda 2 500 µL urin (circDNA_2000_DSP) eller 4 500 µL urin (circDNA_4000_DSP) med 250 µL respektive 450 µL Buffer ATL.
- Inkubera proverna vid rumstemperatur (15–25 °C) i 1 timme.
- Centrifugera proverna vid 1 900 x g i 10 minuter i rumstemperatur (15–25 °C).
Om precipitat är synliga i supernatanter efter centrifugering ska proverna värmas till 25 °C i ett vattenbad för att lösa upp precipitaterna.
- Överför supernatanter till ett sekundärt provrör och ladda sedan det här röret i provhållaren (se labbmateriellista, som finns i resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com)

Viktigt: Stabilitet och integritet av cirkulerande cellfritt DNA är begränsat i icke-stabiliserat urin. Vi rekommenderar att ladda högst en batch på 24 prover per QIASymphony-körning för att minimera tiden i systemet för urinprover.

Interfererande ämnen

Plasmaprover med hög koncentration av gammaglobulin (>30 g/l) kan leda till minskat återställning av cirkulerande cellfritt DNA.

Revisionshistorik

Datum	Ändringar
Version 2, R1 December 2020	Startversion.

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive QIAGEN-kithandbok eller -bruksanvisning. Handböcker och bruksanvisningar till QIAGEN-kit finns på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN teknisk service eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN-gruppen). Registrerade namn, varumärken med mera som används i det här dokumentet ska inte anses som oskyddade enligt lag, även om de inte uttryckligen anges som skyddade.

12/2020 HB-2309-S02-001 © 2020 QIAGEN, med ensamrätt.

Beställning www.qiagen.com/shop | Teknisk support support.qiagen.com | Webbplats www.qiagen.com