

2020년 12월

QIASymphony[®] SP

프로토콜 시트

circDNA_2000_DSP_V2 및
circDNA_4000_DSP_V2

본 문서는 QIASymphony DSP Circulating DNA Kit 프로토콜 시트, 버전 2, R1입니다.

일반 정보

시험관 내 진단용입니다.

이 프로토콜은 QIASymphony SP 및 QIASymphony DSP Circulating DNA Kit 를 사용하여 신선 또는 동결된 인체 혈장 및 소변에서 인간 순환 무세포 DNA 를 정제하기 위한 것입니다.

키트	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (카탈로그 번호 937556)	
검체 물질	인간 혈장: EDTA 또는 구연산염 항응고 처리, 또는 ccfDNA 안정화 인간 소변: 비안정화 또는 안정화	
프로토콜명	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
기본 분석 대조물질 세트	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
용출량	60 µl	60 µl
필요한 소프트웨어 버전	버전 4.0 이상	버전 5.0 이상

“Sample”(검체) 드로어

검체 유형	인간 혈장(“검체 재료의 준비” 참조) 및 인간 소변(안정화 또는 비안정화)
검체 분량	사용한 검체 튜브의 유형에 따라 다름 자세한 정보는 www.qiagen.com 의 해당 제품 리소스 탭에서 확인할 수 있는 랩웨어 목록을 참조하십시오.
1 차 검체 튜브	해당 없음
2 차 검체 튜브	자세한 정보는 www.qiagen.com 의 해당 제품 리소스 탭에서 확인할 수 있는 랩웨어 목록을 참조하십시오.
인서트	해당 없음
기타	단백분해효소 K 를 슬롯 A 에 추가해야 함(위치 1 및/또는 2)

n/a = 해당 없음.

“Sample”(검체) 드로어에서의 단백질분해효소 K 준비 작업

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit 에는 실온(15 ~ 25°C)에서 저장할 수 있고 즉시 사용 가능한 단백질분해효소 K 용액이 들어 있습니다.

참고: 단백질분해효소 K 가 들어 있는 튜브가 튜브 캐리어에 배치되어 있습니다. 단백질분해효소 K 가 들어 있는 튜브는 “Sample”(검체) 드로어의 슬롯 A 내 위치 1 및/또는 2 에 배치해야 합니다. 필요한 튜브 유형은 www.qiagen.com 의 해당 제품 리소스 탭에서 확인할 수 있는 랩웨어 목록을 참조하십시오.

검체 개수*	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 [†]

* 각 검체에는 circDNA_2000_DSP 의 경우 110 µl 또는 circDNA_4000_DSP 의 경우 220 µl + 추가적인 공극 부피 1100 µl[(n x 110 또는 220 µl) + 1100 µl]가 필요합니다.

[†] circDNA_4000_DSP 의 경우: 48 개를 초과하는 검체를 처리하는 경우 두 번째 튜브를 사용합니다. 튜브당 최대 로딩량은 11.660 µl 입니다. 두 번째 튜브의 경우 1100 µl 의 추가적인 공극 부피가 필요합니다.

“Reagents and Consumables”(시약 및 소모품) 드로어

위치 A1 및/또는 A2	시약 카트리지
위치 B1	해당 없음
팁 랙 홀더 1 ~ 18	일회용 필터 팁, 200 µl 또는 1500 µl
유닛 박스 홀더 1 ~ 4	검체 준비 카트리지가 포함된 유닛 박스 또는 8-Rod Covers

n/a = 해당 없음.

“Waste”(폐기물) 드로어

유닛 박스 홀더 1 ~ 4	빈 유닛 박스
폐기물 봉지 홀더	폐기물 봉지
액체 폐기물 병 홀더	액체 폐기물 병을 비움

“Eluate”(용출액) 드로어

용출 랙(슬롯 1, 냉각 위치 사용 권장)	자세한 정보는 www.qiagen.com 의 해당 제품 리소스 탭에서 확인할 수 있는 랩웨어 목록을 참조하십시오.
-------------------------	---

필요한 플라스틱 용기

프로토콜 circDNA_2000_DSP

플라스틱 용기	1 개 배치 24 개 검체*	2 개 배치 48 개 검체*	3 개 배치 72 개 검체*	4 개 배치 96 개 검체*
일회용 필터 팁, 200 µl [†]	28	56	84	112
일회용 필터 팁, 1500 µl [†]	56	112	168	224
검체 준비 카트리지 [‡]	15	30	45	60
8-Rod Covers [§]	3	6	9	12

* 배치당 24 개 미만의 검체 사용은 실행당 필요한 일회용 필터 팁 개수를 감소시킵니다.

[†] 32 개의 필터 팁/필터 팁 랙이 있습니다.

[‡] 필요한 필터 팁의 수는 시약 카트리지가 한 번의 재고 스캔을 위한 필터 팁을 포함합니다.

[§] 유닛 박스당 28 개 검체 준비 카트리지가 있습니다.

[¶] 유닛 박스당 12 개 8-Rod Covers 가 있습니다.

프로토콜 circDNA_4000_DSP

플라스틱 용기	1 개 배치 24 개 검체*	2 개 배치 48 개 검체*	3 개 배치 72 개 검체*	4 개 배치 96 개 검체*
일회용 필터 팁, 200 µl†	28	56	84	112
일회용 필터 팁, 1500 µl‡	96	192	288	384
검체 준비 카트리지§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* 배치당 24 개 미만의 검체 사용은 실행당 필요한 일회용 필터 팁 개수를 감소시킵니다.

† 32 개의 필터 팁/필터 팁 랙이 있습니다.

‡ 필요한 필터 팁의 수는 시약 카트리지당 한 번의 재고 스캔을 위한 필터 팁을 포함합니다.

§ 유닛 박스당 28 개 검체 준비 카트리지가 있습니다.

¶ 유닛 박스당 12 개 8-Rod Covers 가 있습니다.

참고: 제공되는 필터 팁의 개수는 설정에 따라 터치스크린에 표시된 개수와 다를 수 있습니다. 가능한 최대한 많은 수의 팁을 로드하는 것을 권장합니다.

용출량

선택한 용출량	초기 용출량
60 µl	75 µl

터치스크린에서 용출량을 선택합니다. 이용 가능한 평균 용출량은 $\geq 60 \mu\text{l}$ 입니다. 개별 사례에서 단일 검체의 최종 용출량은 선택한 용량보다 최대 5 µl 적을 수 있습니다(예: 55 µl). 이송하기 전에 용출액을 확인하지 않는 자동 분석 설정 시스템 사용 시 실제 용출량을 확인하는 것을 권장합니다.

용출액 보관

실행이 끝난 직후에 "Eluate"(용출액) 드로어에서 용출 플레이트를 꺼낼 것을 권장합니다. 실행이 밤새 완료된 후 용출 플레이트를 QIAasympyony SP 에 둘 수 있습니다(실행 시간 포함 최대 16 시간, 다음 환경 조건 권장: 18 ~ 26°C 및 20 ~ 75% 상대 습도). 온도와 습도에 따라 용출액에서 응축 또는 증발이 발생할 수 있습니다.

검체 준비 후, 용출액은 최대 1 개월 2 ~ 8°C 에서 보관할 수 있습니다. 장기간 보관하려면 용출액을 -30 ~ -15°C 또는 -90 ~ -65°C 에서 보관할 수 있습니다. 동결된 용출액은 3 회를 초과하여 해동해서는 안됩니다.

검체 재료의 준비

화학물질로 작업할 때 항상 적합한 실험용 가운, 일회용 장갑 및 보안경을 착용하십시오. 자세한 정보는 제품 공급업체에서 구할 수 있는 적절한 안전 보건 자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하십시오.

시작 전 중요 사항

- 검체 내/위의 거품 형성을 방지하십시오.
- 실행을 시작하기 전에 검체를 실온(15 ~ 25°C)에 평형시켜야 합니다.

인간 혈장

EDTA 또는 구연산염을 항응고제로 하여 처리한 혈액 검체는 혈장 정제에 사용할 수 있습니다. ccDNA 안정화 혈액 채취 튜브에서 준비한 혈장도 사용할 수 있습니다. 혈장을 제조업체가 명시한 대로 생성합니다.

EDTA 또는 구연산염을 항응고제로 사용하는 경우 혈액 기증 직후 혈장 분리를 실행할 것을 권장합니다.

특정 다운스트림 애플리케이션의 경우 소포로부터 핵산을 제외하거나 최소화해야 할 수 있습니다. 그러한 경우 초기 혈장 생성 후 실온(15 ~ 25°C)에서 10 분간 16,000 x g 로 고속 원심분리를 실시할 것을 권장합니다.

채취 및 원심분리 후, 혈장은 실온에서 최대 7 일간, 2 ~ 8°C 에서 최대 14 일간 보관할 수 있습니다. 보다 장기간의 보관을 위해서는 분취량을 -20°C 또는 -80°C 에서 동결시킬 것을 권장합니다. 동결된 혈장은 3 회를 초과하여 해동해서는 안 됩니다. 반복적인 동결-해동은 단백질의 변성과 침전을 야기하여 순환 무세포 핵산의 수율 감소로 이어질 수 있습니다. 검체에서 동결침전제제가 육안으로 보이면 실온(15 ~ 25°C)에서 3 분간 6,800 x g 로 원심분리하고 펠렛을 건드리지 않으면서 상층액을 2 차 검체 튜브로 옮깁니다(www.qiagen.com 의 해당 제품 리소스 탭에서 확인할 수 있는 랩웨어 목록 참조). 즉시 정제 절차를 시작합니다.

인간 소변

소변 채취 후 순환 무세포 DNA 의 급격한 분해로 인해 소변 검체를 즉시 안정화할 것을 강력히 권장합니다.

안정화 인간 소변

안정화 소변은 실온(15 ~ 25°C) 또는 2~8°C 에서 최대 7 일간 보관할 수 있습니다. 보다 장기간의 보관을 위해서는 분취량을 -30 ~ -15°C 또는 -90 ~ -65°C 에서 동결시킬 것을 권장합니다.

안정화 소변 검체는 검체 전처리가 필요하지 않습니다. 안정화 후, 소변 검체를 실온(15 ~ 25°C)에서 10 분간 저속(1900 x g)으로 원심분리하여 순환 무세포 DNA 추출 전에 세포를 제거할 것을 권장합니다. 원심분리 후 상층액에서 침전물이 보이면 수조 내에서 검체를 25°C 로 데워 침전물을 용해시킵니다. 실행을 시작하기 전에 안정화 소변 검체를 2 차 검체 튜브로 옮기고 검체 캐리어에 이 튜브를 로드합니다(www.qiagen.com 의 해당 제품 리소스 탭에서 확인할 수 있는 랩웨어 목록 참조).

“비안정화” 인간 소변

Buffer ATL 이 필요한 프로토콜을 시작하기 전에 Buffer ATL 에 침전물이 형성되지 않았는지 점검합니다. 필요하다면 70°C 로 가열하고 수조 내에서 약하게 진탕시켜 용해시킵니다. Buffer ATL 의 표면에서 거품을 흡인합니다.

참고: Buffer ATL(Buffer ATL, 4 x 50 ml, 카탈로그 번호 939016)은 QIASymphony DSP Circulating DNA Kit 의 일부가 아니며 별도로 주문해야 합니다.

채취 직후 소변 검체를 실온(15 ~ 25°C)에서 10 분간 저속(1900 x g)으로 원심분리하여 세포를 제거할 것을 권장합니다. 비안정화 소변 검체는 검체 전처리가 필요합니다.

중요: 전처리를 시작하기 전에 검체를 실온(15 ~ 25°C)에 맞춥니다.

중요: 원심분리 및 전처리는 소변 검체 채취 후 4 시간 이내에 실시해야 합니다.

- 2500 µl 소변(circDNA_2000_DSP) 또는 4500 µl 소변(circDNA_4000_DSP)을 각각 250 µl 또는 450 µl Buffer ATL 과 혼합합니다.
- 검체를 1 시간 동안 실온(15 ~ 25°C)에서 배양합니다.
- 검체를 실온(15 ~ 25°C)에서 10 분간 1900 x g 로 원심분리합니다.
원심분리 후 상층액에서 침전물이 보이면 수조 내에서 검체를 25°C 로 데워 침전물을 용해시킵니다.
- 상층액을 2 차 검체 튜브로 옮기고 검체 캐리어에 이 튜브를 로드합니다(www.qiagen.com 의 해당 제품 리소스 탭에서 확인할 수 있는 랩웨어 목록 참조)

중요: 순환 무세포 DNA 의 안정성 및 무결성은 비안정화 소변에서 제한됩니다. 소변 검체의 탑재 시간을 최소화하기 위해 QIASymphony 당 최대 24 개 검체의 배치 1 개를 로드할 것을 권장합니다.

간섭 물질

감마 글로불린 농도가 높은 혈장 검체(>30 g/l)는 순환 무세포 DNA 의 회수를 감소시킬 수 있습니다.

개정 이력

날짜	변경 사항
버전 2, R1 2020 년 12 월	최초 배포.

최신 라이선스 정보 및 제품별 면책 사항은 각 QIAGEN 키트 안내서 또는 사용 설명서를 참조하십시오. QIAGEN 키트 안내서와 사용 설명서는 www.qiagen.com 에서 확인하거나 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 요청할 수 있습니다.

상표: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN 그룹). 이 문서에 사용된 등록된 이름, 상표 등은 별도로 표시되지 않은 경우에도 법적 보호를 받는 것으로 간주됩니다.

12/2020 HB-2309S02-001 © 2020 QIAGEN, 모든 권리 보유.

주문 www.qiagen.com/shop | 기술 지원 support.qiagen.com | 웹사이트 www.qiagen.com