

Joulukuu 2020

QIAsymphony[®] SP -protokollalomake

circDNA_2000_DSP_V2 ja
circDNA_4000_DSP_V2

Tämä asiakirja on QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan protokollalomakkeen versio 2, R1

Yleistä

In vitro -diagnostiikkaan.

Tämä on protokolla ihmisen kiertävän soluttoman DNA:n puhdistukseen tuoreesta tai pakastetusta ihmisen plasmasta ja virtsasta QIASymphony SP:n ja QIASymphony DSP Circulating DNA Kit-sarjan avulla.

Sarja	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarja (tuotenumero 937556)	
Näyttemateriaali	Ihmisen plasma: EDTA- tai sitraatti-antikoaguloitu tai ccfDNA-stabiloitu Ihmisen virtsa: stabiloimaton tai stabiloitu	
Protokollan nimi	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
Analyyisin kontrollin oletusasetus	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
Eluutiotilavuus	60 µl	60 µl
Tarvittava ohjelmistoversio	Versio 4.0 tai uudempi	Versio 5.0 tai uudempi

Sample (Näyte) -lokero

Näytetyyppi	Ihmisen plasma (katso Näyttemateriaalin valmistelu) ja ihmisen virtsa (stabiloitu tai stabiloimaton)
Näyttemäärä	Määräytyy käytettävän näyteputkityypin mukaan Katso lisätietoja laboratoriotarvikeluettelosta, joka on saatavilla tuotesivun materiaalivälilehdestä osoitteessa www.qiagen.com .
Ensisijaiset näyteputket	n/a
Toissijaiset näyteputket	Katso lisätietoja laboratoriotarvikeluettelosta, joka on saatavilla tuotesivun materiaalivälilehdestä osoitteessa www.qiagen.com .
Asettimet	n/a
Muu	Proteinaasi K lisätään aukkoon A (sijaintiin 1 ja/tai 2)

n/a = ei olennainen.

Proteinaasi K:n valmistelu Sample (Näyte) -lokerossa

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarja sisältää valmiskäyttöistä proteinaasi K-liuosta, jota voidaan säilyttää huoneenlämmössä (15–25 °C).

Huomautus: Proteinaasi K:ta sisältävät putket asetetaan putkitelineeseen. Proteinaasi K:ta sisältävät putket on asetettava Sample (Näyte) -lokeron aukon A sijaintiin/sijainteihin 1 ja/tai 2. Katso tarvittava putkityyppi laboratoriotarvikeluettelosta, joka on saatavilla tuotesivun materiaalivälilehdellä osoitteessa www.qiagen.com.

Näytteiden määrä*	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 [†]

* Jokaista näytettä kohden tarvitaan 110 µl circDNA_2000_DSP-protokollaan tai 220 µl circDNA_4000_DSP-protokollaan ja lisäksi 1 100 µl:n tyhjä tilavuus [(n x 110 tai 220 µl) + 1 100 µl].

[†] circDNA_4000_DSP-protokollalla: Jos näytteitä käsitellään enemmän kuin 48, käytä toista putkea. Yhden putken enimmäistyyttömäärä on 11 660 µl. Myös toiseen putkeen tarvitaan 1 100 µl:n tyhjä tilavuus.

Reagents and Consumables (Reagenssit ja tarvikkeet) -lokero

Sijainti A1 ja/tai A2	Reagenssikasetti
Sijainti B1	n/a
Käritelineen pidike 1-18	Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 tai 1 500 µl
Yksikkölaatikon pidike 1-4	Yksikkölaatikot sisältävät näytteenvalmistelukasetit tai 8-Rod Covers -kannet

n/a = ei oleellinen.

Waste (Jäte) -lokero

Yksikkölaatikon pidike 1-4	Tyhjät yksikkölaatikot
Jätepussin pidike	Jätepussi
Nestejätepullon pidike	Tyhjä nestejätepullo

Eluate (Eluaatti) -lokero

Eluaattilinen (suositeltu sijainti 1, jäähdytysasento)	Katso lisätietoja laboratoriotarvikeluettelosta, joka on saatavilla tuotesivun materiaalivälilehdestä osoitteessa www.qiagen.com .
---	--

Vaaditut muoviasiat

Protokolla circDNA_2000_DSP

Muoviasiat	Yksi erä 24 näytettä*	Kaksi erää 48 näytettä*	Kolme erää 72 näytettä*	Neljä erää 96 näytettä*
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 µl[†]	28	56	84	112
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 1500 µl[†]	56	112	168	224
Näytteenvalmistelukasetit[§]	15	30	45	60
8-Rod Covers[¶]	3	6	9	12

* Jos erässä käytetään alle 24 näytettä, ajossa tarvitaan vähemmän kertakäyttöisiä suodatinkärkiä.

[†] Suodatinkäritelineessä on 32 suodatinkärkeä.

[‡] Tarvittavien suodatinkärkien määrä käsittää suodatinkärjet yhteen skannaukseen per reagenssikasetti.

[§] Yksikkölaatikossa on 28 näytteenvalmistelukasettia.

[¶] Yksikkölaatikossa on 12 kpl 8-Rod Covers -kannetta.

Protokolla circDNA_4000_DSP

Muoviastiat	Yksi erä 24 näytettä*	Kaksi erää 48 näytettä*	Kolme erää 72 näytettä*	Neljä erää 96 näytettä*
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 µl†	28	56	84	112
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 1500 µl†	96	192	288	384
Näytevalmistelukasetti§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Jos erässä käytetään alle 24 näytettä, ajossa tarvitaan vähemmän kertakäyttöisiä suodatinkärkiä.

† Suodatinkärkitelineessä on 32 suodatinkärkeä.

‡ Tarvittavien suodatinkärkien määrä käsittää suodatinkärjet yhteen skannaukseen per reagenssikasetti.

§ Yksikkölaatikossa on 28 näytevalmistelukasettia.

¶ Yksikkölaatikossa on 12 kpl 8-Rod Covers -kannta.

Huomautus: Mainittu suodatinkärkien määrä voi poiketa kosketusnäytössä näkyvästä luvusta asetuksista riippuen. Suositus on, että kärkiä ladataan suurin mahdollinen määrä.

Eluutiotilavuus

Valittu eluutiotilavuus	Alkuperäinen eluutiotilavuus
60 µl	75 µl

Eluutiotilavuus valitaan kosketusnäytöstä. Keskimääräinen saatavilla oleva eluutiotilavuus on ≥ 60 µl. Yksittäisissä tapauksissa lopullinen eluaattitilavuus yksittäisillä näytteillä voi olla korkeintaan 5 µl vähemmän kuin valittu tilavuus (eli 55 µl). Suositus on, että todellinen eluaattitilavuus tarkistetaan, kun käytetään automaattista määrityksen asetusjärjestelmää, joka ei tarkista eluaattitilavuutta ennen siirtoa.

Eluaattien säilytys

On suositeltavaa poistaa eluaattilevy Eluate (Eluaatti) -lokerosta heti ajon päättymisen jälkeen. Eluutiolevyt voidaan jättää QIASymphony SP:hen, jos ajo suoritetaan yön aikana (korkeintaan 16 tuntia ajon kesto mukaan luettuna; suositellut ympäristöolosuhteet: 18–26 °C ja 20–75 %:n suhteellinen kosteus). Lämpötilan ja kosteuden vaikutuksesta eluaatissa saattaa ilmetä kondensaatiota tai haihtumista.

Näytteen valmistelun jälkeen eluaatteja voidaan säilyttää 2–8 °C:n lämpötilassa korkeintaan yhden kuukauden ajan. Eluaattien pitkäaikaista säilytystä varten lämpötilan tulee olla välillä –30...–15 °C tai –90...–65 °C. Pakastettuja eluaatteja ei saa sulattaa enempää kuin kolme kertaa.

Näyttemateriaalin valmistelu

Työskennellessä kemikaalien kanssa on aina käytettävä asianmukaista laboratoriotakkia, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoja on tuotekohtaisissa käyttöturvallisuustiedotteissa (Safety Data Sheet, SDS), joita saa tuotteen toimittajalta.

Tärkeitä huomioita ennen kuin aloitat

- Vaahdon muodostuminen näytteisiin tai niiden pinnalle on estettävä.
- Näytteet on tasapainotettava huoneenlämpöön (15–25 °C) ennen ajon aloittamista.

Ihmisen plasma

Verinäytteitä, joiden antikoagulantti on EDTA tai sitraatti, voidaan käyttää plasman valmistelussa. ccfDNA-stabiloiduista verinäyteputkista valmistettua plasmaa voi myös käyttää. Plasma valmistetaan valmistajan ohjeiden mukaisesti.

Plasman erottaminen suositellaan tekemään välittömästi verenluovutuksen jälkeen, jos antikoagulanttina käytetään EDTA:ta tai sitraattia.

Joitain myöhempiä käyttötarkoituksia varten nukleiinihapot voidaan joutua poistamaan tai minimoimaan rakkuloista. Tällaisissa tapauksissa suositellaan käyttämään näytettä sentrifugissa 10 minuutin ajan suurella nopeudella 16 000 x g:ssa huoneenlämmössä (15–25 °C) alkuperäisen plasman valmistuksen jälkeen.

Näytteenoton ja sentrifugissa käytön jälkeen plasmaa voidaan säilyttää huoneenlämmössä korkeintaan seitsemän päivää ja 2–8 °C:ssa korkeintaan 14 päivää. Pidempää säilytystä varten suositellaan pakastamista alikvooteissa –20 °C:n tai –80 °C:n lämpötilassa. Pakastettua plasmaa ei saa sulattaa enempää kuin kolme kertaa. Toistuva pakastaminen ja sulattaminen johtaa proteiinien denaturoitumiseen ja saostumiseen, mikä saattaa vähentää kiertävien soluttomien nukleiinihappojen tuottoa. Jos näytteissä näkyy kryosaostumia, käytä niitä sentrifugissa nopeudella 6 800 x g kolmen minuutin ajan huoneenlämmössä (15–25 °C) ja siirrä supernatantit toissijaiseen näyteputkeen pelletteihin koskematta (katso laboratoriotarvikeluettelo, joka on saatavilla tuotesivun materiaalivälilehdestä osoitteessa www.qiagen.com). Aloita puhdistus välittömästi.

Ihmisen virtsa

Koska kiertävä soluton DNA hajoaa nopeasti virtsanäytteen ottamisen jälkeen, virtsanäytteet suositellaan stabiloimaan välittömästi.

Stabiloitu ihmisen virtsa

Stabiloitua virtsaa voidaan säilyttää huoneenlämmössä (15–25 °C) tai 2–8 °C:n lämpötilassa enintään seitsemän päivää. Pidempää säilytystä varten suositellaan pakastamista alikvooteissa –30...–15 °C:n tai –90...–65 °C:n lämpötilassa.

Stabiloituja virtsanäytteitä ei tarvitse esikäsitellä. Stabiloinnin jälkeen virtsanäytteitä on suositeltavaa käyttää sentrifugissa hitaalla nopeudella (1 900 x g) 10 minuutin ajan huoneenlämmössä (15–25 °C), jotta solut poistuvat ennen kiertävän soluttoman DNA:n eristämistä. Jos supernatanteissa näkyy saostumia sentrifugissa käytön jälkeen, lämmitä näytteet 25 °C:n lämpötilaan vesihauteessa, jotta saostumat liukenevat. Siirrä stabiloidut virtsanäytteet ennen ajon aloittamista toissijaiseen näyteputkeen ja lataa putki sitten näyteputkelineeseen (katso laboratoriotarvikeluettelo, joka on saatavilla tuotesivun materiaalivälilehdestä osoitteessa www.qiagen.com).

Stabiloimaton ihmisen virtsa

Tarkista ennen Buffer ATL -puskuria edellyttävän protokollan aloittamista, onko Buffer ATL -puskuriin muodostunut saostumia. Liuota saostumat tarvittaessa lämmittämällä puskuriliuos 70 °C:een varovasti ravistellen vesihauteessa. Aspiroi kuplat Buffer ATL -puskurin pinnalta.

Huomautus: Buffer ATL -puskuri (Buffer ATL, 4 x 50 ml, tuotenro 939016) ei kuulu QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjaan, ja se on tilattava erikseen.

Virtsanäytteitä on suositeltavaa käyttää sentrifugissa välittömästi näytteenoton jälkeen hitaalla nopeudella (1 900 x g) 10 minuutin ajan huoneenlämmössä (15–25 °C), jotta solut poistuvat. Stabiloimattomat virtsanäytteet täytyy esikäsitellä.

Tärkeää: anna näytteiden tasaantua huoneenlämpöön (15–25 °C) ennen esikäsitteilyn aloittamista.

Tärkeää: sentrifugissa käyttö ja esikäsitteily pitää tehdä 4 tunnin kuluessa virtsanäytteiden ottamisesta.

- Sekoita 2 500 µl virtsaa (circDNA_2000_DSP) tai 4 500 µl virtsaa (circDNA_4000_DSP) vastaavasti 250 µl:aan tai 450 µl:aan Buffer ATL -puskuria.
- Inkuboi näytteitä huoneenlämmössä (15–25 °C) yhden tunnin ajan.
- Käytä näytteitä sentrifugissa nopeudella 1 900 x g 10 minuutin ajan huoneenlämmössä (15–25 °C).

Jos supernatantissa näkyy saostumia sentrifugissa käytön jälkeen, lämmitä näytteet 25 °C:n lämpötilaan vesihauteessa, jotta saostumat liukenevat.

- Siirrä supernatantit toissijaiseen näyteputkeen ja lataa putki sitten näyteputkitelineeseen (katso laboratoriotarvikeluettelo, joka on saatavilla tuotesivun materiaalivälilehdestä osoitteessa www.qiagen.com)

Tärkeää: Kiertävän soluttoman DNA:n stabiilius ja eheys ovat rajallisia stabiloimattomassa virtsassa. Jotta virtsanäytteet olisivat laitteessa mahdollisimman vähän aikaa, on suositeltavaa ladata korkeintaan yksi 24 näytteen erä yhdelle QIASymphony-ajolle.

Häiritsevät aineet

Jos plasmanäytteiden gammaglobuliinipitoisuus on korkea (> 30 g/l), kiertävän soluttoman DNA:n talteenotto saattaa vähentyä.

Muutoshistoria

Päiväys	Muutokset
Versio 2, R1 Joulukuu 2020	Ensimmäinen versio.

Voimassa olevat lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet ovat saatavilla tuotekohtaisista QIAGEN-sarjojen käyttöoppaista tai käsikirjoista. QIAGEN-sarjojen käsikirjat ja käyttöoppaat ovat saatavilla osoitteessa www.qiagen.com, tai niitä voi tiedustella QIAGENin teknisestä palvelusta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

Tavaramerkit: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Tässä asiakirjassa mainittuja rekisteröityjä nimiä, tavaramerkkejä jne. on pidettävä lain suojaamina, vaikkei niitä olisi erityisesti sellaisiksi merkitty.

12/2020 HB-2309-S02-001 © 2020 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.

Tilaukset www.qiagen.com/shop | Tekninen tuki support.qiagen.com | Verkkosivusto www.qiagen.com