

Huhtikuu 2021

QIASymphony[®] SP -laitteen käyttöohje (protokollalomake)

PreAnalytiX QIASymphony PAXgene[®] Blood
ccfDNA Kit -sarjalle (CE-IVD) ja PreAnalytiX
PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkelle
(CE-IVD; **CE**0123)

PAXgene Blood ccfDNA -IVD-protokollat:

PAXcircDNA_2400, PAXcircDNA_4800, PAXcircDNA_PrimaryTube_2400 ja PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

Yleistä

In vitro -diagnostiikkaan.

QIASymphony SP -laitteen kanssa käytettävä QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarja (CE-IVD) on tarkoitettu kiertävän soluttoman DNA:n (circulating cell-free DNA, ccfDNA) eristämiseen ja puhdistamiseen plasmasta, joka on johdettu PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin (CE-IVD) kerätystä ihmisen laskimokokoverestä.

Puhdistustoimenpide on optimoitu PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin (CE-IVD) kerätystä ihmisen laskimokokoverestä johdetun plasman käyttöä varten. Katso ohjeet verinäytteen ottoon PAXgene Blood ccfDNA Tube -putken (CE-IVD) käyttöohjeesta tuotteen kotisivulta (www.PreAnalytiX.com).

PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin (CE-IVD) kerätystä ihmisen laskimokokoverestä johdetun plasman ccfDNA:n automaattista eristystä varten on kehitetty neljä eri protokollaa. Vakioversioissa syötettäväksi näytemääräksi voi valita 2,4 tai 4,8 ml plasmaa. Lisäksi ensisijaisten putkien käsittelyprotokollissa PAXgene Blood ccfDNA Tube -putken (CE-IVD) voi asettaa suoraan QIASymphony SP -laitteeseen. Ensisijaisten putkien käsittelyprotokollissa käytettävissä olevat syötettävät näytemäärät ovat 2,4 tai 4,0 ml plasmaa (katso taulukot seuraavilla sivuilla).

Jokaiseen ccfDNA:n eristyksessä käytettävään plasmamäärään tarvitaan taulukon 1 yhteenvedon mukainen vastaava syötettävä näytemäärä, mukaan lukien tyhjä tilavuus ja vastaava protokollaskripti.

Taulukko 1. Yleistä tietoa QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarjan (CE-IVD) käytöstä

Näyttemateriaali	PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin (CE-IVD) kerätystä laskimokokoverestä johdettu ihmisen plasma			
Sarja	QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarja (CE-IVD), 192, tuotenro 768566			
Ohjelmistoversio	Versio 5.0 tai uudempi			
Protokollat	Protokollalinja	Syötettävä näytemäärä (tyhjä tilavuus mukaan lukien) (ml)	ccfDNA:n eristykseen käytettävä näytemäärä (ml)	(Assay Control_) Protokollan nimi
Vakio		2,8	2,4	(ACS_) PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	(ACS_) PAXcircDNA_4800
Ensisijaisten putkien käsittely	valintatyökalun mukaan		2,4	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Plasman valmistelussa voi käyttää (A) vakiotyyppistä kaksoisentrifugointiprotokollaa tai (B) ensisijaisten putkien käsittelyä: kertaluontoisten kertasentrifugoitujen PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkien (CE-IVD) suoraa käsittelyä QIASymphony SP -laitteessa.

A) Plasman valmistelu verestä vakioprotokollia varten

1. Sentrifugoi PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkea (CE-IVD) huoneenlämmössä (15–25 °C) 15 minuuttia nopeudella 1 600 – 3 000 × g tasapainotetussa kääntyväkoteloisessa sentrifugissa. Jos jarrutusta halutaan käyttää, sen täytyy olla validoitu kyseiselle työnkululle ja voimakkuudeltaan mielellään keskitasoinen.

Huomautus: jos näytteitä on säilytetty jääkaapissa ennen sentrifugointia, parhaat tulokset saat, kun annat putkien palautua huoneenlämpöön ennen käsittelyä.

2. Pipetoi plasma 15 ml:n kartiopohjaiseen sentrifugiputkeen (ei sisälly pakkaukseen) sekoittamatta tumallista solufraktiota.
3. Sentrifugoi 15 ml:n kartiopohjaista sentrifugiputkea 10 minuuttia huoneenlämmössä (15–25 °C) nopeudella 1 600 – 3 000 × g tasapainotetussa sentrifugissa.

Huomautus: toissijaisen putken valmistajan suosittelemaa sentrifugoinnin enimmäisnopeutta ei saa ylittää.

4. Pipetoi tarvittava plasmamäärä (katso kohta Näytemäärä sivulla 5) 14 ml:n pyöreäpohjaiseen 17 x 100 mm:n polystyreeniputkeen sekoittamatta mahdollisesti jäljellä olevaa verisolupellettiä.
5. Siirrä plasmanäytteen sisältävä pyöreäpohjainen putki putkitelineeseen ja aseta putkiteline QIASymphony SP -laitteen näytteidensyöttölokeroon.

Huomautus: suurimman mahdollisen ccfDNA-sadon saat käsittelemällä mahdollisimman paljon plasmata.

Huomautus: Vaahdon muodostuminen plasmanäytteisiin tai niiden pinnalle on estettävä. Jos näytteessä on vaahdot tai ilmakuplia, saatetaan pipetoida väärä määrä näytettä.

Huomautus: Verinäytteen ottamisen ja sentrifugoinnin jälkeen plasmata voi säilyttää 2–8 °C:n lämpötilassa enintään seitsemän vuorokautta. Pidempää säilytystä varten suositellaan pakastamista alikvooteissa.

Huomautus: aiemmin varastoituja (esim. 2–8 °C:ssa tai pakastettuina –20 tai –70/–80 °C:ssa säilytettyjä) plasmanäytteitä käytettäessä näytteiden täytyy antaa tasaantua huoneenlämpöön (15–25 °C) ennen ajon aloittamista.

B) Plasman valmistelu verestä ensisijaisten putkien QIASymphony SP -laitteessa käsittelyä varten

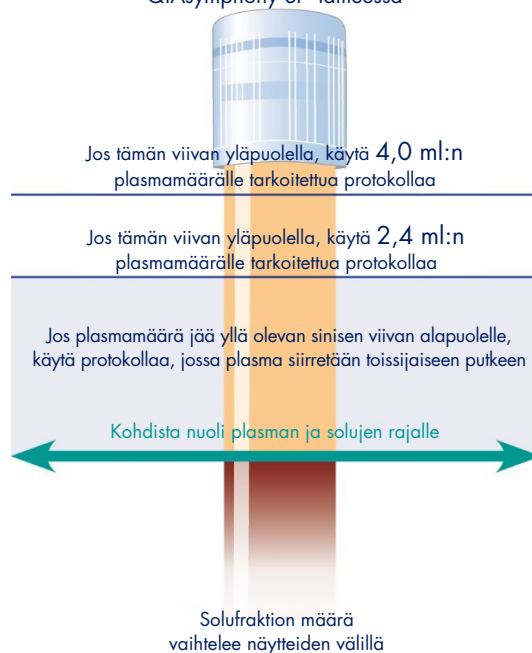
1. Sentrifugoi PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkea (CE-IVD) huoneenlämmössä (15–25 °C) 15 minuuttia nopeudella 3 000 × g tasapainotetussa kääntyväkoteloisessa sentrifugissa. Jos jarrutusta halutaan käyttää, sen täytyy olla validoitu kyseiselle työnkululle ja voimakkuudeltaan mielellään keskitasoinen.

Huomautus: jos näytteitä on säilytetty jääkaapissa ennen sentrifugointia, parhaat tulokset saat, kun annat putkien palautua huoneenlämpöön ennen käsittelyä.

2. Kvantifioi kunkin putken plasmamäärä sentrifugikotelosta poistamisen jälkeen sarjaan sisältyvällä PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool -valintatyökalulla (kuva 1). Kun putki poistetaan sentrifugista, työkalun turkoosinvärinen nuoli kohdistetaan plasman ja solujen rajalle. Siniset viivat osoittavat, onko plasman taso riittävä ensisijaisten putkien 2,4 tai 4,0 ml:n käsittelyprotokollalle. Plasmapylvään korkeuden on oltava vähintään 2,3 cm 2,4 ml:n protokollaa varten ja vähintään 3,4 cm 4,0 ml:n protokollaa varten.



Optimaalisen protokollan määrittäminen
PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkien (CE-
IVD) suoralle käsittelylle
QIASymphony SP -laitteessa



Kuva 1. Plasmamäärän määrittäminen PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool -valintatyökalulla (Tämä kuva on vain kuvitustarkoitukseen. Älä tulosta sitä, sillä se poikkeaa todellisesta koosta – ei saa käyttää näytteiden mittaamiseen.)

Huomautus: jos plasma ja solufraktio eivät ole erottuneet selkeästi tai faasit sekoittuivat vahingossa sentrifugista poiston aikana, sentrifugointi on toistettava.

3. Poista Hemogard Closure Cap -tulpat PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkista (CE-IVD), ennen kuin asetat ne QIASymphony SP -laitteeseen suoraa ccfDNA:n eristystä varten.
4. Aseta avatut, riittävästi plasmaa sisältävät PAXgene Blood ccfDNA Tube -putket (CE-IVD) putkitelineeseen ja aseta putkiteline QIASymphony SP -laitteen näytteidensyöttölokeroon.

Näytemäärä

Jotta tavallisessa työnkulussa voidaan varmistaa, että laite siirtää 2,4 ml (PAXcircDNA_2400-protokolla) tai 4,8 ml näytettä (PAXcircDNA_4800-protokolla), tarvitaan vastaavasti 0,4 ja 0,5 ml:n tyhjät tilavuudet eli näytettä on syötettävä vähintään 2,8 tai 5,3 ml käytettävän protokollan mukaan. Jos käytettävissä on alle 2,8 tai 5,3 ml:n plasmamäärät, protokollatoimintoon integroitu Less Sample mode (Pienen näytemäärän tila) sallii lueteltuja pienempien plasmamäärien siirtämisen. Tällöin laite siirtää pienemmän määrän näytettä ja siirretty määrä näkyy tulostiedostosta. Lisäksi tällaiset näytteet merkitään epäselviksi (virhekoodi 140043, Enable Less Sample [Ota pienen näytemäärän tila käyttöön]). Pienimmät mahdolliset syötettävät plasmamäärät Less Sample mode (Pienen näytemäärän tila) -asetuksella ovat 1,6 ml (PAXcircDNA_2400-protokolla) ja 4,1 ml (PAXcircDNA_4800-protokolla). Jos näytemäärä on pienempi, näytteitä ei käsitellä ja ne merkitään epäkelvoiksi. Ensisijaisten putkien käsittelytyönkulussa oikea näytemäärä varmistetaan sarjaan sisältyvällä PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool -valintatyökalulla, josta kerrotaan kohdassa B) Plasman valmistelu verestä ensisijaisten putkien QIASymphony SP -laitteessa käsittelyä varten sivulla 3.

Sample (Näyte) -lokero

Taulukko 2. Tietoa näytelokeron kokoonpanosta*

Näytetyyppi	PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin (CE-IVD) kerätystä laskimokokoverestä johdettu ihmisen plasma
Syötettävä näytemäärä (tyhjä tilavuus mukaan lukien)	2,8 ml (PAXcircDNA_2400); 5,3 ml (PAXcircDNA_4800) Katso PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool -valintatyökalusta (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Katso PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool -valintatyökalusta (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000)
Ensisijaiset näyteputket	10 ml:n PAXgene Blood ccfDNA Tube -putki (CE-IVD), 16 x 100 mm (BD™, tuotenro 768165)
Toissijaiset näyteputket	14 ml:n pyöreäpohjaiset 17 x 100 mm:n polystyreeniputket (Corning®, tuotenro 352051)
Asettimet	–
Muu	Proteinaasi K, joka tarvitaan 14 ml:n pyöreäpohjaisiin 17 x 100 mm:n polystyreeniputkiin (Corning, tuotenro 352051); käytä vain putkitelineen paikkoja 1 ja 2 (aukko A)

* Katso myös laboratoriotarvikeluettelo, joka on saatavilla Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä sivulla www.qiagen.com.

n/a, ei olennainen.

Putkitelineeseen sopivat näyteputket

Taulukko 3. Tietoa putkitelineen kokoonpanosta*

Nimi kosketus-näytössä	Toimittaja	Materiaali	Esimerkki tuote-numero	Asetin	PAXcircDNA_2400	PAXcircDNA_4800	PAXcircDNA_PrimaryTube_2400	PAXcircDNA_PrimaryTube_4000
BD #352051 FalconPP 17 x 100	Corning [†]	14 ml Falcon® polystyrene round-bottom tube 17 x 100 mm	352051	Asetinta ei tarvita	2,8 ml [‡]	5,3 ml [‡]	–	–
					1,6 ml [§] (Enable Less Sample [Ota pienen näytemäärän tila käyttöön])	4,1 ml [§] (Enable Less Sample [Ota pienen näytemäärän tila käyttöön])		
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100	BD	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm	768165	Asetinta ei tarvita	–	–	Katso PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool -valintatyökalusta	

* Katso myös laboratoriotarvikeluettelo, joka on saatavilla Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä sivulla www.qiagen.com.

[†] Aiemmin BD:n toimittama.

[‡] Vaadittu vähimmäisnäytemäärä per näyte per protokolla (mukaan lukien tyhjä tilavuus); hyytymien tunnistaminen mahdollista.

[§] Pienempi vähimmäisnäytemäärä Enable Less Sample (Ota pienen näytemäärän tila käyttöön) -toiminnolla. Enable Less Sample (Ota pienen näytemäärän tila käyttöön) -toiminto on suunniteltu käyttämään kaikki saatavilla oleva neste yhteensä nestetaso tunnistus ja hyytymien tunnistus huomioiden. Enable Less Sample (Ota pienen näytemäärän tila käyttöön) -toimintoa käytettäessä näytteet merkitään epäselviksi.

n/a, ei olennainen.

Reagents and Consumables (Reagenssit ja tarvikkeet) -lokero

Sijainti A1 ja/tai A2	Reagenssikasetti
Sijainti B1	–
Kärkitelineen pidike 1–17	Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 µl tai 1 500 µl
Yksikkölaatikon pidike 1–4	Yksikkölaatikot sisältävät näyteenvalmistelukasetit tai 8-Rod Covers -kannet

n/a = ei olennainen.

Waste (Jäte) -lokero

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

Eluate (Eluaatti) -lokero

Toimittaja	Materiaali	Esimerkkituote-numero	Luokka	Nimi kosketusnäytössä	Adapteri eluutioaukossa 1 (jäähdytetty)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	Toimitetaan sarjan mukana (19588)	Deep Well	QIA#19588* EMTR	Elution Microtube Rack QS
Eppendorf®	1.5 ml DNA LoBind® Tube	0030108.051	Tube, 1.5 ml	EP#0030108.051** T1.5 Snap Cap	Snap-Cap Microtube
Sarstedt®	1.5 ml Microtube, PP, non-skirted	72607	Tube, 1.5 ml / Tube, 1.5 ml Adapter V1 (no BC)	SAR#72.607* T1.5 Screw / SAR#72.607** T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS
Sarstedt	2.0 ml Microtube, PP, non-skirted	72693	Tube 2.0 ml / Tube_2.0ml AdapterV1 (no BC)	SAR#72.693 *T2.0 Screw	Microtube Screw Cap QS
Starlab®	1.5 ml Microtube, graduated conical tube, non-skirted	E1415-2231	Tube, 1.5 ml/ Tube_1.5ml AdapterV1 (no BC)	SL#E1415-2231 *T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS, 24-wells, tuotenro 9020674 (jäähdytysaukko 1)
				SL#E1415-2231 **T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS (jäähdytysaukko 1)
				SL#E1415-2231 T1.5 Screw	1.5/2.0 ml QS (ei-jäähdyttävät aukot 2–4)

* Tarkoittaa laboratoriotarvikkeita, jotka voidaan jäähdyttää jäähdytyssovitimella ja joissa on viivakoodi (voidaan siirtää ja käyttää QIASymphony AS -laitteessa).

** Tarkoittaa laboratoriotarvikkeita, jotka voidaan jäähdyttää jäähdytyssovitimella ilman viivakoodia (ei voida siirtää eikä käyttää QIASymphony AS -laitteessa).

Vaaditut muoviasiat

Muoviasiat	PAXcircDNA_2400		PAXcircDNA_4800	
	PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	Yksi erä, 24 näytettä*	Kaksi erää, 48 näytettä*	Yksi erä, 24 näytettä*	Kaksi erää, 48 näytettä*
Disposable filter-tips, 200 µl ^{††}	24	48	24	48
Disposable filter-tips, 1500 µl ^{††}	64	128	104	200
Sample prep cartridges [§]	15	30	18	36
8-Rod Covers [†]	3	6	3	6
	Kolme erää, 72 näytettä*	Neljä erää, 96 näytettä*	Kolme erää, 72 näytettä*	Neljä erää, 96 näytettä*
Disposable filter-tips, 200 µl ^{††}	72	96	72	96
Disposable filter-tips, 1500 µl ^{††}	192	256	296	392
Sample prep cartridges [§]	45	60	54	72
8-Rod Covers [†]	9	12	9	12

* Jos erässä käytetään alle 24 näytettä, ajossa tarvitaan vähemmän kertakäyttöisiä suodatinkärkiä. Useampaan kuin yhteen skannaukseen tarvitaan lisää kertakäyttöisiä suodatinkärkiä.

[†] Suodatinkärkitelineessä on 32 suodatinkärkeä.

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

[§] Yksikkölaatikossa on 28 näytteenvälikasettia.

[†] Yksikkölaatikossa on 12 kpl 8-Rod Covers -kantta.

Huomautus: Mainittu suodatinkärkien määrä voi poiketa kosketusnäytössä näkyvästä luvusta asetuksista riippuen. Suosittelemme lataamaan suurimman mahdollisen määrän kärkiä.

Eluutiotilavuus

Valittu eluutiotilavuus (µl)*	Alkuperäinen eluutiotilavuus (µl) [†]
60	75

* Tämä on käytettävissä olevan eluaatin vähimmäistilavuus lopullisessa eluaattiputkessa QIAGEN EMT -telineessä (tuotenro 19588) ja 1,5 ml:n Sarstedt-kierrekorkkiputkissa (tuotenro 72.607). Yksittäisissä tapauksissa lopullinen eluutiotilavuus yksittäisillä näytteillä voi olla korkeintaan 5 µl vähemmän.

[†] Vaadittava alkuperäinen eluutiopuskurin tilavuus, jotta voidaan varmistaa, että todellinen eluutiotilavuus on sama kuin yllä valittu tilavuus.

Proteinaasi K:n valmistelu aukon A paikassa 1 (ja tarvittaessa paikassa 2)

QIAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarja (CE-IVD) sisältää käyttövalmiin proteinaasi K -liuoksen. Proteinaasi K -liuosta voi säilyttää huoneenlämmössä (15–25 °C). Pidempää säilytystä varten proteinaasi K -liuosta sisältävät entsyymipullot suositellaan pitämään 2–8 °C:n lämpötilassa.

Näytteen numero	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400*	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000*
8	1 980 µl	2 860 µl
24	3 740 µl	6 380 µl
48	6 380 µl	11 660 µl [†]
96	11 660 µl [†]	23 320 µl [†]

* Jokaista näytettä kohden tarvitaan 110 µl (2400 µl plasmata) tai 220 µl (4 800/4 000 µl plasmata) ja lisäksi 1 100 µl:n tyhjä tilavuus [(n x 110 tai 220 µl) + 1 100 µl].

[†] Jos tarvitaan yli 11 660 µl näytettä, käytä toissijaista putkea (Corning, tuotenro 352051). Myös toiseen putkeen tarvitaan 1 100 µl:n tyhjä tilavuus.

Huomautus: Proteinaasi K:ta sisältävät putket asetetaan putkitelineeseen. Proteinaasi K:ta sisältävä putkiteline on asetettava Sample (Näyte) -lokeron aukon A paikkoihin 1 ja 2. Suosittelemme käyttämään proteinaasi K -liuokselle 14 ml:n pyöreäpohjaisia 17 x 100 mm:n polystyreeniputkia (Corning, tuotenro 352051).

Muutoshistoria

Päiväys	Muutokset
R1, 04/2021	Ensimmäinen versio.
R2, 04/2021	"(CE 0123)" korvattu normaalisti muotoillussa tekstissä tiedolla, että IVDR-asetuksen liitteen X muotoiluvaatimukset täyttyvät

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®, QIAamp®, QIASymphony® (QIAGEN Group); PAXgene® (PreAnalytix GmbH); BD™ (Becton Dickinson and Company); Corning®, Falcon® (Corning, Inc.); Eppendorf®, LoBind® (Eppendorf AG); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.); Starlab® (Starlab International GmbH). Tässä asiakirjassa mainittuja rekisteröityjä nimiä, tavaramerkkejä jne. on pidettävä lain suojaamina, vaikka niitä olisi erityisesti sellaisiksi merkitty.

04/2021 HB-2866-S01-002 © 2021 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.

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