

Δεκέμβριος 2020

Φύλλο πρωτοκόλλου QIAasymphony[®] SP

circDNA_2000_DSP_V2 και
circDNA_4000_DSP_V2

Το παρόν έγγραφο είναι το φύλλο πρωτοκόλλου του QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit,
έκδοση 2, R1

Γενικές πληροφορίες

Για in vitro διαγνωστική χρήση.

Αυτό το πρωτόκολλο αφορά τον καθαρισμό του ανθρώπινου ελεύθερου κυτάρων κυκλοφορούντος DNA από φρέσκο ή κατεψυγμένο ανθρώπινο πλάσμα και ούρα με χρήση του QIASymphony SP και του QIASymphony DSP Circulating DNA Kit.

Κιτ	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (αρ. κατ. 937556)	
Υλικό δείγματος	Ανθρώπινο πλάσμα: με αντιπηκτικό EDTA ή κιτρικών, ή με σταθεροποιημένο ccfDNA Ανθρώπινα ούρα: μη σταθεροποιημένα ή σταθεροποιημένα	
Ονομασία πρωτοκόλλου	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
Προκαθορισμένο σετ μαρτύρων προσδιορισμού	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
Όγκος έκλουσης	60 μl	60 μl
Απαιτούμενη έκδοση λογισμικού	Έκδοση 4.0 ή μεταγενέστερη	Έκδοση 5.0 ή μεταγενέστερη

Συρτάρι «Sample» (Δείγμα)

Τύπος δείγματος	Ανθρώπινο πλάσμα (βλ. «Προετοιμασία του δείγματος») και Ανθρώπινα ούρα (σταθεροποιημένα ή μη σταθεροποιημένα)
Όγκος δείγματος	Εξαρτάται από τον τύπο του σωληναρίου δείγματος που χρησιμοποιείται Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού, που βρίσκεται στην καρτέλα πόρων στη σελίδα του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com .
Πρώτα σωληνάρια δείγματος	δ/ε
Δεύτερα σωληνάρια δείγματος	Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού, που βρίσκεται στην καρτέλα πόρων στη σελίδα του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com .
Ένθετα	δ/ε
Άλλο	Η πρωτεΐνωση K πρέπει να προστεθεί στην υποδοχή A (θέση 1 ή/και 2)

δ/ε = δεν εφαρμόζεται.

Προετοιμασία της πρωτεΐνωσης K στο συρτάρι «Sample» (Δείγμα)

Το κιτ QIASymphony DSP Circulating DNA Kit περιέχει έτοιμο για χρήση διάλυμα πρωτεΐνωσης K, το οποίο μπορεί να φυλαχθεί σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C).

Σημείωση: Τα σωληνάρια που περιέχουν πρωτεΐνωση K τοποθετούνται σε έναν φορέα σωληναρίων. Τα σωληνάρια που περιέχουν την πρωτεΐνωση K πρέπει να τοποθετούνται στις θέσεις 1 ή/και 2 της υποδοχής A του συρταριού «Sample» (Δείγμα). Για τον απαιτούμενο τύπο σωληναρίου, δείτε τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού, που βρίσκεται στην καρτέλα πόρων στη σελίδα του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com.

Αριθμός δειγμάτων*	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†

* Για κάθε δείγμα, απαιτούνται 110 µl για το circDNA_2000_DSP ή 220 µl για το circDNA_4000_DSP, συν ένας επιπλέον κενός όγκος 1100 µl [(n x 110 ή 220 µl) + 1100 µl].

† Για το circDNA_4000_DSP: Εάν υποβάλλονται σε επεξεργασία περισσότερα από 48 δείγματα, χρησιμοποιήστε ένα δεύτερο σωληνάριο. Ο μέγιστος όγκος φόρτωσης ανά σωληνάριο είναι 11,660 µl. Για το δεύτερο σωληνάριο απαιτείται επιπλέον κενός όγκος 1100 µl.

Συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα)

Θέση A1 ή/και A2	Φύσιγγα αντιδραστηρίων
Θέση B1	δ/ε
Στήριγμα θήκης ρυγχών 1-18	Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 µl ή 1500 µl
Στήριγμα κουτιού μονάδων 1–4	Κουτιά μονάδων που περιέχουν φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων ή 8-Rod Covers

δ/ε = δεν εφαρμόζεται.

Συρτάρι «Waste» (Απόβλητα)

Στήριγμα κουτιού μονάδων 1–4	Κενά κουτιά μονάδων
Στήριγμα σακούλας αποβλήτων	Σακούλα αποβλήτων
Στήριγμα φιάλης υγρών αποβλήτων	Κενή φιάλη υγρών αποβλήτων

Συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα)

Θήκη έκλουσης (συνιστάται η χρήση της υποδοχής 1, θέση ψύξης)	Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού, που βρίσκεται στην καρτέλα πόρων στη σελίδα του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com .
--	---

Απαιτούμενα πλαστικά υλικά

Πρωτόκολλο circDNA_2000_DSP

Πλαστικά υλικά	Μία παρτίδα 24 δειγµατα*	Δύο παρτίδες 48 δειγµατα*	Τρεις παρτίδες 72 δειγµατα*	Τέσσερις παρτίδες 96 δειγµατα*
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 µl†‡	28	56	84	112
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 1500 µl†‡	56	112	168	224
Φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων§	15	30	45	60
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Η χρήση λιγότερων από 24 δειγμάτων ανά παρτίδα μειώνει τον αριθμό των αναλώσιμων ρυγχών φίλτρου που απαιτούνται ανά εκτέλεση.

† Κάθε θήκη ρυγχών φίλτρου περιέχει 32 ρύγχη φίλτρου.

‡ Ο αριθμός των απαιτούμενων ρυγχών φίλτρου περιλαμβάνει ρύγχη φίλτρου για 1 σάρωση υλικού ανά φύσιγγα αντιδραστηρίων.

§ Κάθε κουτί μονάδων περιέχει 28 φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων.

¶ Κάθε κουτί μονάδων περιέχει δώδεκα 8-Rod Covers.

Πρωτόκολλο circDNA_4000_DSP

Πλαστικά υλικά	Μία παρτίδα 24 δείγματα*	Δύο παρτίδες 48 δείγματα*	Τρεις παρτίδες 72 δείγματα*	Τέσσερις παρτίδες 96 δείγματα*
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 μl†‡	28	56	84	112
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 1500 μl†‡	96	192	288	384
Φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Η χρήση λιγότερων από 24 δειγμάτων ανά παρτίδα μειώνει τον αριθμό των αναλώσιμων ρυγχών φίλτρου που απαιτούνται ανά εκτέλεση.

† Κάθε θήκη ρυγχών φίλτρου περιέχει 32 ρύγχη φίλτρου.

‡ Ο αριθμός των απαιτούμενων ρυγχών φίλτρου περιλαμβάνει ρύγχη φίλτρου για 1 σάρωση υλικού ανά φύσιγγα αντιδραστηρίων.

§ Κάθε κουτί μονάδων περιέχει 28 φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων.

¶ Κάθε κουτί μονάδων περιέχει δώδεκα 8-Rod Covers.

Σημείωση: Ανάλογα με τις εκάστοτε ρυθμίσεις, οι αριθμοί των ρυγχών φίλτρου ενδέχεται να διαφέρουν από εκείνους που προβάλλονται στην οθόνη αφής. Συνιστάται η φόρτωση του μέγιστου δυνατού αριθμού ρυγχών.

Όγκος έκλουσης

Επιλεγμένος όγκος έκλουσης	Αρχικός όγκος έκλουσης
60 μl	75 μl

Ο όγκος έκλουσης επιλέγεται στην οθόνη αφής. Ο μέσος διαθέσιμος όγκος έκλουσης είναι ≥ 60 μl. Σε μεμονωμένες περιπτώσεις ο τελικός όγκος εκλούσματος για ξεχωριστά δείγματα μπορεί να είναι έως και 5 μl μικρότερος από τον επιλεγμένο όγκο (π.χ., 55 μl). Συνιστάται ο έλεγχος του πραγματικού όγκου εκλούσματος κατά τη χρήση αυτοματοποιημένου συστήματος ρύθμισης παραμέτρων προσδιορισμού που δεν επαληθεύει τον όγκο εκλούσματος πριν από την μεταφορά.

Φύλαξη των εκλουσμάτων

Συνιστάται η αφαίρεση της πλάκας εκλούσματος από το συρτάρι «Eluate» (έκλουσμα) αμέσως μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης. Οι πλάκες έκλουσης μπορούν να παραμείνουν στο QIASymphony SP μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης κατά τη διάρκεια της νύχτας (μέγιστος χρόνος 16 ώρες, συμπεριλαμβανομένου του χρόνου εκτέλεσης, συνιστώμενες περιβαλλοντικές συνθήκες: θερμοκρασία 18–26°C και σχετική υγρασία 20–75%). Ανάλογα με τη θερμοκρασία και την υγρασία, το έκλουσμα μπορεί να υποστεί συμπύκνωση ή εξάτμιση.

Μετά την προετοιμασία των δειγμάτων, τα εκλούσματα μπορούν να φυλαχθούν στους 2–8°C για έως και 1 μήνα. Για μακροχρόνια φύλαξη, τα εκλούσματα μπορούν να αποθηκευτούν σε θερμοκρασία –30 έως –15°C ή –90° έως –65°C. Τα κατεψυγμένα εκλούσματα δεν πρέπει να αποψυχθούν περισσότερες από 3 φορές.

Προετοιμασία του δείγματος

Κατά την εργασία με χημικά, θα πρέπει να φοράτε πάντα κατάλληλη προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφαλείας (Safety Data Sheets, SDS), τα οποία διατίθενται από τον προμηθευτή του προϊόντος.

Σημαντικές υποδείξεις πριν από την εκκίνηση

- Αποφύγετε τη δημιουργία αφρού μέσα ή επάνω στα δείγματα.
- Τα δείγματα θα πρέπει να αποκτούν θερμοκρασία περιβάλλοντος (15–25°C) πριν από την έναρξη της εκτέλεσης.

Ανθρώπινο πλάσμα

Για την παρασκευή του πλάσματος μπορούν να χρησιμοποιηθούν δείγματα αίματος που έχουν υποβληθεί σε επεξεργασία με EDTA ή κιτρικά ως αντιπηκτικό. Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί πλάσμα που έχει παρασκευαστεί από σωληνάρια συλλογής αίματος με σταθεροποιημένο ccfDNA. Το πλάσμα παράγεται όπως καθορίζεται από τον κατασκευαστή.

Όταν ως αντιπηκτικό χρησιμοποιούνται EDTA ή κιτρικά, ο διαχωρισμός του πλάσματος συνιστάται να εκτελείται αμέσως μετά την αιμοδοσία.

Για ορισμένες καθοδικές εφαρμογές μπορεί να είναι απαραίτητο να αποκλειστούν ή να ελαχιστοποιηθούν τα νουκλεϊκά οξέα από τα κυστίδια. Για τις περιπτώσεις αυτές, συνιστάται η εκτέλεση ενός βήματος φυγοκέντρισης υψηλής ταχύτητας σε 16.000 x g επί 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) μετά την αρχική παραγωγή πλάσματος.

Μετά τη συλλογή και τη φυγοκέντριση, το πλάσμα μπορεί να φυλαχθεί σε θερμοκρασία δωματίου για έως και 7 ημέρες και σε θερμοκρασία 2–8°C για έως και 14 ημέρες. Για μακροχρόνια φύλαξη, συνιστάται η κατάψυξη των κλασμάτων σε θερμοκρασία –20°C ή –80°C. Το κατεψυγμένο πλάσμα δεν πρέπει να αποψυχθεί περισσότερες από 3 φορές. Η επαναλαμβανόμενη κατάψυξη-απόψυξη οδηγεί σε μετουσίωση και κατακρήμνιση των πρωτεϊνών, με δυνητικό αποτέλεσμα μειωμένες αποδόσεις κυκλοφορούντων ελεύθερων κυττάρων νουκλεϊκών οξέων. Σε περίπτωση ορατών κρουϊζιμάτων στα δείγματα, φυγοκεντρίστε σε 6.800 x g επί 3 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) και μεταφέρετε τα υπερκείμενα υγρά σε ένα δεύτερο σωληνάριο δείγματος, χωρίς να διαταράξετε τα ιζήματα (δείτε τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού, που βρίσκεται στην καρτέλα πόρων στη σελίδα του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com). Αρχίστε αμέσως τη διαδικασία καθαρισμού.

Ανθρώπινα ούρα

Λόγω της ταχείας αποδόμηση του κυκλοφορούντος ελεύθερου κυττάρων DNA μετά τη συλλογή ούρων, συνιστάται ιδιαίτερως η άμεση σταθεροποίηση των δειγμάτων ούρων.

Ανθρώπινα ούρα σταθεροποιημένα

Τα σταθεροποιημένα ούρα μπορούν να φυλαχθούν σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) ή σε θερμοκρασία 2–8°C για έως και 7 ημέρες. Για μακροχρόνια φύλαξη, συνιστάται η κατάψυξη των κλασμάτων σε θερμοκρασία –30 έως –15°C ή –90 έως –65°C.

Τα σταθεροποιημένα δείγματα ούρων δεν απαιτούν προκαταρκτική επεξεργασία των δειγμάτων. Μετά τη σταθεροποίηση, συνιστάται η φυγοκέντριση των δειγμάτων ούρων σε χαμηλή ταχύτητα (1900 x g) επί 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) για να απομακρυνθούν τα κύτταρα πριν από την εκχύλιση του κυκλοφορούντος ελεύθερου κυττάρων DNA. Σε περίπτωση ορατών ιζημάτων στα υπερκείμενα υγρά μετά τη φυγοκέντριση, θερμάνετε τα δείγματα στους 25°C σε υδατόλουτρο για να διαλυθούν τα ιζήματα. Προτού ξεκινήσετε μια εκτέλεση, μεταφέρετε τα σταθεροποιημένα δείγματα ούρων σε ένα δεύτερο σωληνάριο δείγματος και, στη συνέχεια, φορτώστε αυτό το σωληνάριο στον φορέα δειγμάτων (δείτε τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού, που βρίσκεται στην καρτέλα πόρων στη σελίδα του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com).

Ανθρώπινα ούρα «μη σταθεροποιημένα»

Προτού ξεκινήσετε ένα πρωτόκολλο που απαιτεί Buffer ATL, ελέγξτε εάν έχει σχηματιστεί ίζημα στο Buffer ATL. Εάν είναι απαραίτητο, διαλύστε θερμαίνοντας στους 70°C με ήπια ανάδευση σε υδατόλουτρο. Αναρροφήστε τις φυσαλίδες από την επιφάνεια του Buffer ATL.

Σημείωση: Το Buffer ATL (Buffer ATL, 4 x 50 ml, αρ. κατ. 939016) δεν αποτελεί μέρος του QIASymphony DSP Circulating DNA Kit και πρέπει να παραγγέλνεται ξεχωριστά.

Συνιστάται η φυγοκέντριση των δειγμάτων ούρων σε χαμηλή ταχύτητα (1900 x g) επί 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) για να απομακρυνθούν τα κύτταρα, αμέσως μετά τη συλλογή. Τα μη σταθεροποιημένα δείγματα ούρων απαιτούν προκαταρκτική επεξεργασία των δειγμάτων.

Σημαντικό: Εξισορροπήστε τα δείγματα σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) πριν από την έναρξη της προκαταρκτικής επεξεργασίας.

Σημαντικό: Η φυγοκέντριση και η προκαταρκτική επεξεργασία θα πρέπει να εκτελούνται εντός 4 ωρών από τη συλλογή των δειγμάτων ούρων.

- Αναμίξτε 2500 μl ούρων (circDNA_2000_DSP) ή 4500 μl ούρων (circDNA_4000_DSP) με 250 μl ή 450 μl Buffer ATL, αντίστοιχα.
- Επώαστε τα δείγματα σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) επί 1 ώρα.
- Φυγοκεντρίστε τα δείγματα σε 1.900 × g επί 10 λεπτά, σε θερμοκρασία (15–25°C).
Σε περίπτωση ορατών ιζημάτων στο υπερκείμενο υγρό μετά τη φυγοκέντριση, θερμάνετε τα δείγματα στους 25°C σε υδατόλουτρο για να διαλυθούν τα ιζήματα.
- Μεταφέρετε τα υπερκείμενα υγρά σε ένα δεύτερο σωληνάριο δείγματος και, στη συνέχεια, φορτώστε αυτό το σωληνάριο στον φορέα δειγμάτων (δείτε τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού, που βρίσκεται στην καρτέλα πόρων στη σελίδα του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com)

Σημαντικό: Η σταθερότητα και η ακεραιότητα του κυκλοφορούντος ελεύθερου κυττάρων DNA είναι περιορισμένη σε μη σταθεροποιημένα ούρα. Συνιστάται η φόρτωση το πολύ μίας παρτίδας 24 δειγμάτων ανά εκτέλεση στο QIAasympphony για να ελαχιστοποιηθεί ο χρόνος παραμονής των δειγμάτων ούρων στο όργανο.

Παρεμβαλλόμενες ουσίες

Τα δείγματα πλάσματος με υψηλές συγκεντρώσεις γάμμα σφαιρίνης (>30 g/l) μπορεί να οδηγήσουν σε μειωμένη ανάκτηση του κυκλοφορούντος ελεύθερου κυττάρων DNA.

Ιστορικό αναθεώρησης

Ημερομηνία	Αλλαγές
Έκδοση 2, R1 Δεκέμβριος 2020	Αρχική κυκλοφορία.

Για ενημερωμένες πληροφορίες άδειας χρήσης και για δηλώσεις αποποίησης ευθύνης σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, δείτε το αντίστοιχο εγχειρίδιο kit QIAGEN ή εγχειρίδιο χρήστη. Οι οδηγίες και τα εγχειρίδια χρήσης των kit QIAGEN είναι διαθέσιμα στον ιστότοπο www.qiagen.com. Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το τμήμα Τεχνικής Εξυπηρέτησης της QIAGEN ή τον αντιπρόσωπο της περιοχής σας.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Οι κατατεθείσες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα κ.λπ. που χρησιμοποιούνται στο παρόν έγγραφο δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευόμενα από τον νόμο, ακόμα και αν αυτό δεν υποδεικνύεται ρητώς.

12/2020 HB-2309-S02-001 © 2020 QIAGEN, με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

Παραγγελίες www.qiagen.com/shop | Τεχνική υποστήριξη support.qiagen.com | Ιστότοπος www.qiagen.com