

Φεβρουάριος 2017

# ΚΙΤ QIAAsymphony<sup>®</sup> DSP Circulating DNA

Χαρακτηριστικά απόδοσης

IVD

CE

MAT

937556

---

# Περιεχόμενα

Χαρακτηριστικά απόδοσης .....	4
Βασική απόδοση .....	4
Ακρίβεια της εκτέλεσης.....	6
Ισοδύναμη απόδοση των πρωτοκόλλων 2 ml και 4 ml.....	7
Κατανομή μεγέθους.....	8
Σταθερότητα του εκλούσματος.....	10

---

Το σύστημα QIAAsymphony DSP Circulating DNA αποτελεί ένα έτοιμο για χρήση σύστημα *in vitro* για τον ποιοτικό καθαρισμό του ανθρώπινου κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων (ccfDNA) από ανθρώπινο πλάσμα και ούρα.

Το κιτ QIAAsymphony DSP Circulating DNA προορίζεται για χρήση μόνο σε συνδυασμό με το όργανο QIAAsymphony SP.

Το κιτ QIAAsymphony DSP Circulating DNA παρέχει αντιδραστήρια για τον πλήρως αυτοματοποιημένο και ταυτόχρονο καθαρισμό του ανθρώπινου ccfDNA από ένα ευρύ φάσμα τύπων ανθρώπινου πλάσματος (με αντιπηκτικό EDTA ή κίτρικό, καθώς και από σωληνάρια συλλογής αίματος με σταθεροποίηση του ccfDNA) και ανθρώπινων ούρων (σταθεροποιημένα και μη σταθεροποιημένα). Δεν έχει τεκμηριωθεί ένα χαρακτηριστικό απόδοσης για κάθε σωληνάριο συλλογής αίματος και πρέπει να επικυρωθεί από τον χρήστη.

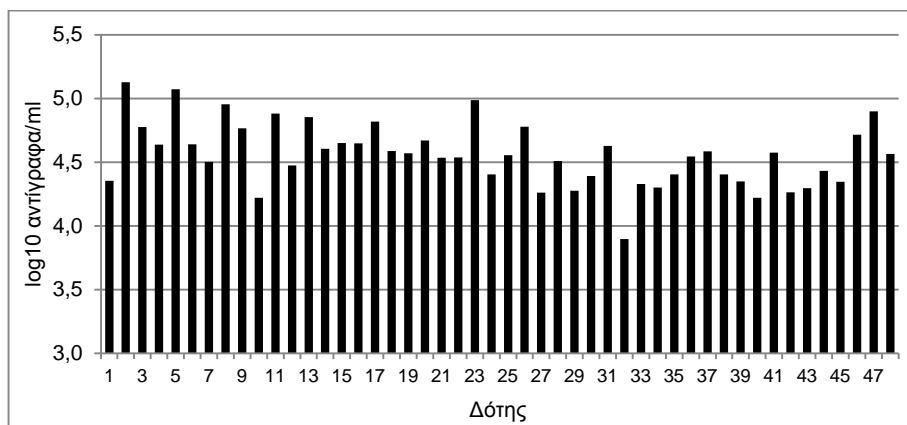
Το καθαρισμένο ccfDNA είναι συμβατό με ένα ευρύ φάσμα καθοδικών (downstream) εφαρμογών. Το QIAAsymphony SP εκτελεί όλα τα βήματα της διαδικασίας καθαρισμού. Σε μία μόνο εκτέλεση υποβάλλονται σε επεξεργασία έως και 96 δείγματα, σε παρτίδες των 24. Τα δείγματα ούρων μπορεί να απαιτούν χειροκίνητη προκαταρκτική επεξεργασία δειγμάτων.

# Χαρακτηριστικά απόδοσης

## Βασική απόδοση

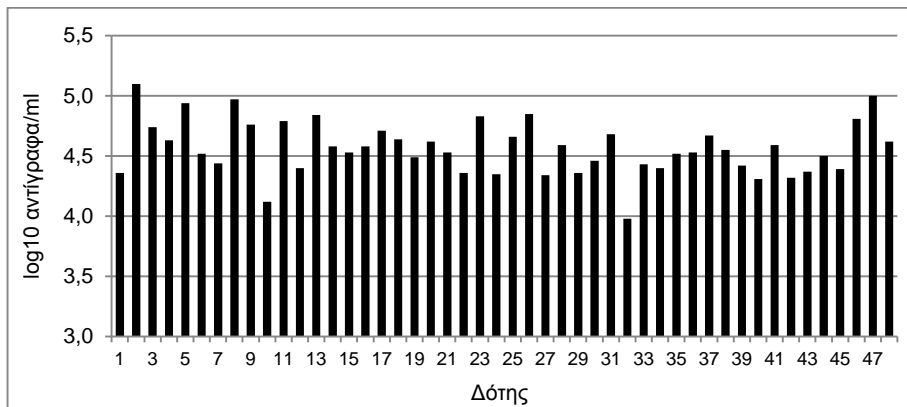
Η βασική απόδοση του κιτ QIAasymphony DSP Circulating DNA αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας 48 μεμονωμένους δότες για ccfDNA που εκχυλίστηκε από 4 ml σταθεροποιημένου πλάσματος καθώς και 4 ml πλάσματος EDTA και 4 ml σταθεροποιημένων ούρων. Η απόδοση ccfDNA προσδιορίστηκε με μια εσωτερική δοκιμασία PCR πραγματικού χρόνου για την αλληλουχία κωδικοποίησης 18S ριβοσωματικού RNA.-

Η διαφορά στις αποδόσεις ( $\log_{10}$  αντίγραφα/ml) στην Εικόνα 1 (4 ml σταθεροποιημένου πλάσματος), στην Εικόνα 2 (4 ml πλάσματος EDTA) και στην Εικόνα 3 (4 ml σταθεροποιημένων ούρων) αντικατοπτρίζει τις ισχυρά εξαρτώμενες από τον χρήστη συγκεντρώσεις ccfDNA που απαντώνται στον ίδιο όγκο του αντίστοιχου υλικού δείγματος. Η απόδοση ccfDNA μεταξύ σταθεροποιημένου πλάσματος και πλάσματος EDTA δείχνει μια υψηλή συσχέτιση για τους 48 μεμονωμένους δότες χρησιμοποιώντας πλάσμα από δύο διαφορετικούς τύπους BCT (Εικόνα 1 και Εικόνα 2).

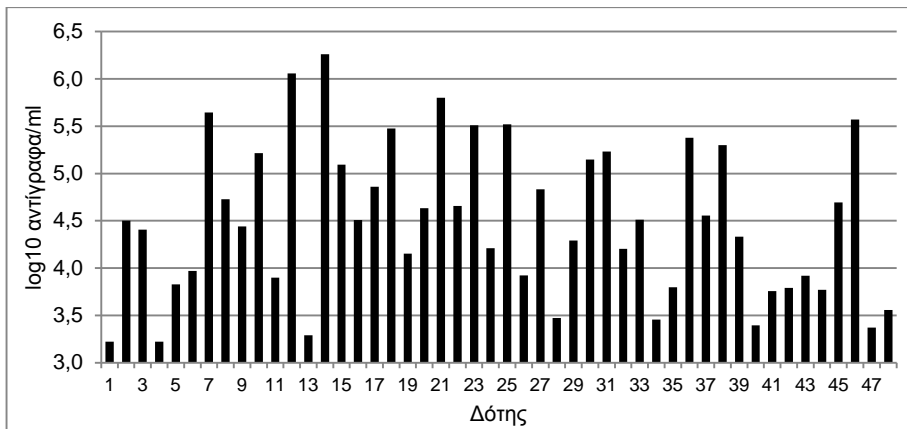


**Εικόνα 1. Η απόδοση ccfDNA από πλάσμα από 48 μεμονωμένους δότες:** σωληνάρια συλλογής αίματος με σταθεροποίηση του ccfDNA. Η αιμοδοσία από 48 μεμονωμένους δότες πραγματοποιήθηκε

σε σωληνάρια συλλογής αίματος με σταθεροποίηση του ccfDNA. Το ccfDNA εκχυλίστηκε από 4 ml πλάσματος χρησιμοποιώντας το kit QIAasymphony DSP Circulating DNA και η απόδοση ccfDNA ποσοτικοποιήθηκε χρησιμοποιώντας μια εσωτερική δοκιμασία PCR πραγματικού χρόνου για την αλληλουχία κωδικοποίησης 18S. Τα αποτελέσματα υπολογίστηκαν ως αντίγραφα-στόχοι ανά ml πλάσματος εισόδου.



**Εικόνα 2. Η απόδοση ccfDNA από πλάσμα από 48 μεμονωμένους δότες:** Σωληνάρια συλλογής αίματος με EDTA. Η αιμοδοσία από 48 μεμονωμένους δότες πραγματοποιήθηκε σε σωληνάρια συλλογής αίματος με EDTA. Το ccfDNA εκχυλίστηκε από 4 ml πλάσματος χρησιμοποιώντας το kit QIAasymphony DSP Circulating DNA και η απόδοση ccfDNA ποσοτικοποιήθηκε χρησιμοποιώντας μια εσωτερική δοκιμασία PCR πραγματικού χρόνου για την αλληλουχία κωδικοποίησης 18S. Τα αποτελέσματα υπολογίστηκαν ως αντίγραφα-στόχοι ανά ml πλάσματος εισόδου.



**Εικόνα 3. Η απόδοση cfDNA από σταθεροποιημένα ούρα από 48 μεμονωμένους δότες.** Ούρα από 48 μεμονωμένους δότες σταθεροποιήθηκαν αμέσως μετά τη συλλογή. Το cfDNA εκχυλίστηκε από 4 ml ούρων χρησιμοποιώντας το kit QIASymphony DSP Circulating DNA και η απόδοση cfDNA ποσοτικοποιήθηκε χρησιμοποιώντας μια εσωτερική δοκιμασία PCR πραγματικού χρόνου για την αλληλουχία κωδικοποίησης 18S.- Τα αποτελέσματα υπολογίστηκαν ως αντίγραφα-στόχοι ανά ml ούρων εισόδου.

## Ακρίβεια της εκτέλεσης

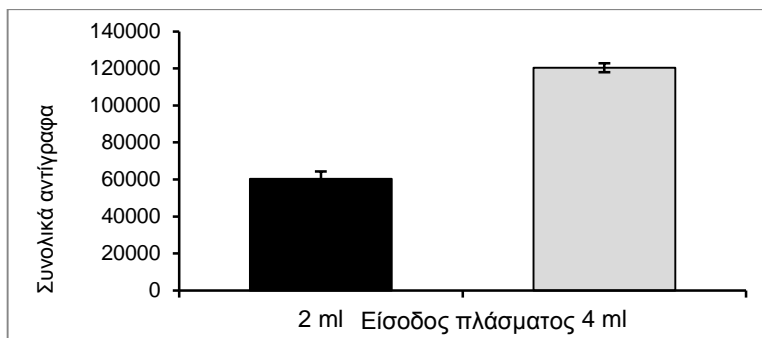
Οι συντελεστές διακύμανσης (CV) προσδιορίστηκαν για την εκχύλιση ανθρωπίνου cfDNA από πλάσμα EDTA. Για την ανάλυση της ακρίβειας, το cfDNA ποσοτικοποιήθηκε χρησιμοποιώντας μια εσωτερική δοκιμασία PCR πραγματικού χρόνου για τη ριβοσωματική αλληλουχία κωδικοποίησης 18S. Συνολικά, πραγματοποιήθηκαν 10 εκτελέσεις QIASymphony, έκαστη σε 4 παρτίδες (8 επαναλήψεις ανά παρτίδα). Τα δεδομένα για την ακρίβεια παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

## Πίνακας 1. Ανάλυση των εκτιμήσεων ακρίβειας

Ακρίβεια	CV (%)
Εντός παρτίδας	11,67
Επαναληψιμότητα	13,14
Ενδιάμεση ακρίβεια	13,14
Συνολική ακρίβεια	14,12

## Ισοδύναμη απόδοση των πρωτοκόλλων 2 ml και 4 ml

Η ισοδύναμη απόδοση των πρωτοκόλλων για είσοδο δείγματος 2 ml και 4 ml αξιολογήθηκε για το kit QIASymphony DSP Circulating DNA με χρήση ενδογενούς ccfDNA που εκχυλίστηκε από δεξαμενή ανθρώπινου πλάσματος EDTA. Συνολικά, πραγματοποιήθηκαν 8 ανεξάρτητες εκτελέσεις QIASymphony, έκαστη σε 4 παρτίδες με 8 επαναλήψεις ανά παρτίδα. Το γραμμικό εύρος της διαδικασίας του kit QIASymphony DSP Circulating DNA καθορίστηκε για την αλληλουχία κωδικοποίησης 18S με μια εσωτερική δοκιμασία PCR πραγματικού χρόνου (Εικόνα 4). Ο λόγος διαφοράς για τα πρωτόκολλα 2 ml και 4 ml παρουσιάζεται στον Πίνακα 2. (Το πρωτόκολλο αναφοράς είναι για είσοδο δείγματος 4 ml).



**Εικόνα 4. Ισοδύναμη απόδοση χρησιμοποιώντας το πρωτόκολλο για είσοδο δείγματος 2 ml και 4 ml.** Το γραμμικό εύρος του πρωτοκόλλου ccfDNA προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας τα πρωτόκολλα 2 ml και 4 ml. Η απόδοση ccfDNA ποσοτικοποιήθηκε χρησιμοποιώντας μια εσωτερική δοκιμασία PCR πραγματικού χρόνου για την αλληλουχία κωδικοποίησης 18S. Τα αποτελέσματα υπολογίστηκαν ως συνολικά αντίγραφα ανά πρωτόκολλο.

**Πίνακας 2. Διαφορά μεταξύ των πρωτοκόλλων 2 ml και 4 ml (N = 256)**

Παράμετρος	Τιμή
Εκτιμώμενος λόγος γεωμετρικού μέσου στα υπολογισμένα αντίγραφα/ml	1,01
Κατώτερο 95% όριο αξιοπιστίας	0,92
Ανώτερο 95% όριο αξιοπιστίας	1,11

Η απόδοση των πρωτοκόλλων για είσοδο δείγματος 2 ml και 4 ml είναι ισοδύναμη, όπως μετρήθηκε στα υπολογισμένα αντίγραφα/ml.

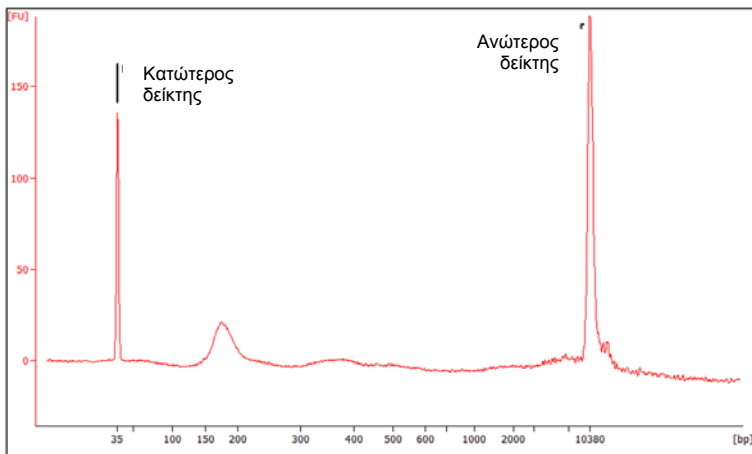
## Κατανομή μεγέθους

Για την αξιολόγηση της κατανομής μεγέθους της εξόδου δείγματος, ccfDNA από είσοδο δείγματος 4 ml εκχυλίστηκε με χρήση του kit QIASymphony DSP Circulating DNA, εκλούστηκε σε 75 μl και στη συνέχεια 1 μl εκλούσματος υποβλήθηκε σε ανάλυση μεγέθους με το Agilent 2100 Bioanalyzer χρησιμοποιώντας ένα Agilent High Sensitivity DNA Chip. Πραγματοποιήθηκε ένα σύνολο 5 ανεξάρτητων επαναλήψεων. Ένα αντιπροσωπευτικό

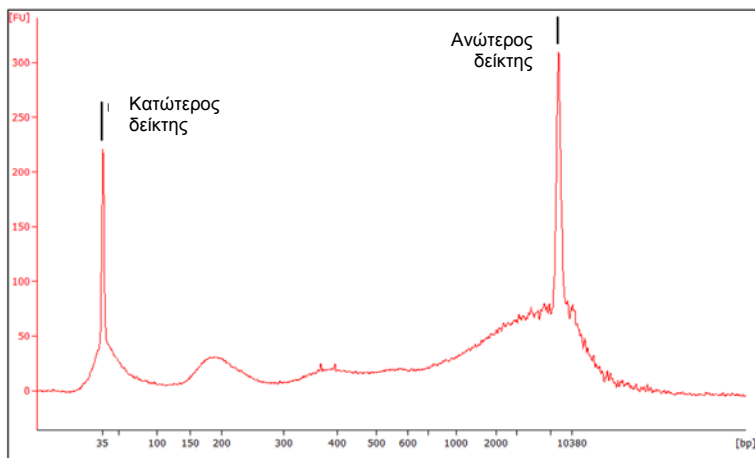


προφίλ DNA παρουσιάζεται για πλάσμα στην Εικόνα 5 και για σταθεροποιημένα ούρα στην Εικόνα 6.

Το διάγραμμα ηλεκτροφόρησης για πλάσμα στην Εικόνα 5 δείχνει τη συχνά παρατηρούμενη κορυφή στα ~160 bp, που κυμαίνεται από 145 bp έως 196 bp, το οποίο είναι το εύρος του μήκους του συνδεδεμένου με ιστόνη DNA στο νουκλεόσωμα. Το διάγραμμα ηλεκτροφόρησης για ούρα στην Εικόνα 6 δείχνει ότι η κυρίαρχη κορυφή στα ~160 bp είναι ευρύτερη και κυμαίνεται από ~145 bp έως 250 bp. Επιπλέον, για τα ούρα είναι παρούσα μια δεύτερη κορυφή που κυμαίνεται από ~20 bp έως 100 bp (στο επίπεδο κορυφής κατώτερου δείκτη), υποδεικνύοντας ένα κλάσμα ccfDNA με υψηλότερο βαθμό κατακερματισμού. Επιπλέον, η Εικόνα 6 δείχνει έναν υψηλό αριθμό μακρών κλασμάτων DNA από ~2 kb. Η υψηλή αφθονία τέτοιων κλασμάτων γονιδιωματικού DNA απαντάται συχνά σε δείγματα ούρων, πιθανότατα λόγω της απελευθέρωσης γονιδιωματικού DNA από κύτταρα που είναι παρόντα στα ούρα.



**Εικόνα 5. Κατανομή μεγέθους του ccfDNA από πλάσμα (προφίλ Bioanalyzer).** Το ccfDNA εκχυλίστηκε από 4 ml πλάσματος EDTA χρησιμοποιώντας το kit QIAasymphony DSP Circulating DNA· 1 μl εκλούσματος υποβλήθηκε σε ανάλυση με Agilent High Sensitivity DNA Chip. Άξονας X: μέγεθος ζεύγους βάσεων (bp), άξονας Y: μονάδες φθορισμού (FU).



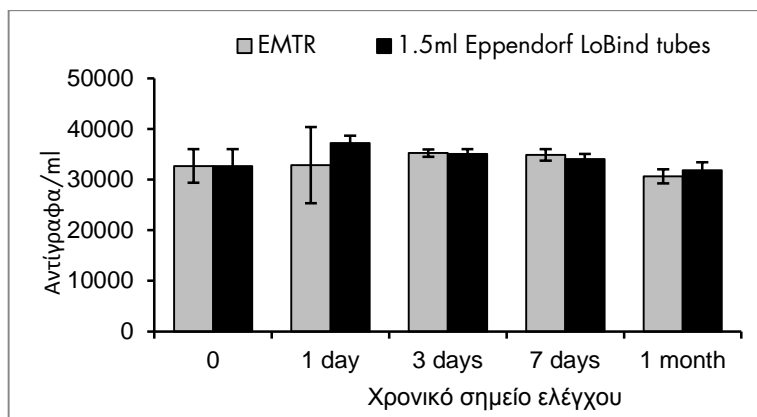
**Εικόνα 6. Κατανομή μεγέθους του cfDNA από ούρα (προφίλ Bioanalyzer).** Το cfDNA εκχυλίστηκε από 4 ml σταθεροποιημένων ούρων χρησιμοποιώντας το kit QIASymphony DSP Circulating DNA. 1 μl εκλούσματος υποβλήθηκε σε ανάλυση με Agilent High Sensitivity DNA Chip. Άξονας X: μέγεθος ζεύγους βάσεων (bp), άξονας Y: μονάδες φθορισμού (FU).

## Σταθερότητα του εκλούσματος

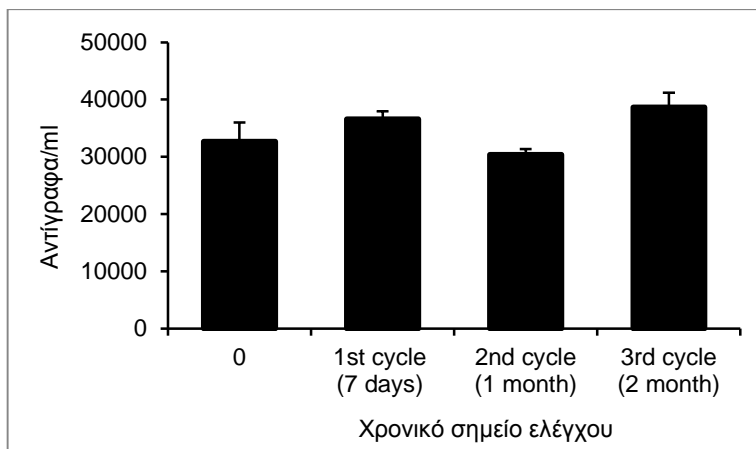
Η σταθερότητα του εκλούσματος για το kit QIASymphony DSP Circulating DNA αξιολογήθηκε με χρήση εκχυλισμένου cfDNA από μια δεξαμενή ανθρώπινου πλάσματος EDTA. Τα εκλούσματα αποθηκεύτηκαν σε 2 διαφορετικές μορφές θήκης έκλουσης: QIAGEN EMTR (Elution Microtubes CL (Μικροσωληνάρια έκλουσης CL) 96, αρ. καταλ. 19588) και σωληνάρια 1,5 ml Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock. Τα εκλούσματα αναλύθηκαν σε επαναλήψεις των 8. Η σταθερότητα του DNA στα εκλούσματα προσδιορίστηκε με μια εσωτερική δοκιμασία PCR πραγματικού χρόνου για την αλληλουχία κωδικοποίησης 18S ριβοσωματικού RNA.

Η σταθερότητα των εκλουσμάτων στους 2–8 °C δεν επηρεάστηκε από τη διάρκεια της περιόδου αποθήκευσης μέχρι ενός μηνός, ή από τη μορφή της αποθήκευσης (Εικόνα 7). Η σταθερότητα του DNA στα σωληνάρια LoBind δεν επηρεάστηκε από την αποθήκευση στους

-15 έως -30°C, η οποία περιλάμβανε 3 κύκλους κατάψυξης-απόψυξης, μετά από 7 ημέρες, ένα μήνα και δύο μήνες (Εικόνα 8).



**Εικόνα 7. Σταθερότητα του cfDNA σε εκλούσματα αποθηκευμένα στους 2-8°C σε 2 μορφές σωληναρίων.** Το cfDNA εκχυλίστηκε από πλάσμα EDTA χρησιμοποιώντας το kit QIAAsymphony DSP Circulating DNA και αποθηκεύτηκε στους 2-8°C για διαφορετικά χρονικά σημεία ελέγχου. Η απόδοση του cfDNA ποσοτικοποιήθηκε χρησιμοποιώντας μια εσωτερική δοκιμασία PCR πραγματικού χρόνου για την αλληλουχία κωδικοποίησης 18S. Τα αποτελέσματα υπολογίστηκαν ως αντίγραφα-στόχοι ανά ml πλάσματος εισόδου.



**Εικόνα 8. Σταθερότητα του cfDNA σε εκλούσματα αποθηκευμένα στους  $-15$  έως  $-30^{\circ}\text{C}$  συμπεριλαμβανομένων 3 κύκλων κατάψυξης-απόψυξης.** Το cfDNA εκχυλίστηκε από πλάσμα EDTA χρησιμοποιώντας το kit QIASymphony DSP Circulating DNA και αποθηκεύτηκε στους  $-15$  έως  $-30^{\circ}\text{C}$  σε σωληνάρια 1,5 ml Eppendorf LoBind. Η απόδοση του cfDNA προσδιορίστηκε σε 3 χρονικά σημεία ελέγχου χρησιμοποιώντας το ίδιο έκλουσμα σε 3 κύκλους κατάψυξης-απόψυξης. Η απόδοση του cfDNA ποσοτικοποιήθηκε χρησιμοποιώντας μια εσωτερική δοκιμασία PCR πραγματικού χρόνου για την αλληλουχία κωδικοποίησης 18S.- Τα αποτελέσματα υπολογίστηκαν ως αντίγραφα-στόχοι ανά ml πλάσματος εισόδου.

---

Για τις τρέχουσες πληροφορίες άδειας και αποτοποιήσεις σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στο σχετικό εγχειρίδιο ή οδηγίες χρήσης του κιτ QIAGEN. Οι οδηγίες ή τα εγχειρίδια χρήσης των κιτ QIAGEN είναι διαθέσιμα στο [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ή μπορούν να ζητηθούν από τις τεχνικές υπηρεσίες της QIAGEN ή από τον τοπικό σας διανομέα.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (Όμιλος QIAGEN)· Eppendorf® (Eppendorf AG).

Οι καταχωρημένες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα κ.λπ. που χρησιμοποιούνται σε αυτό το έγγραφο, δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευμένα από το νόμο, ακόμη και αν δεν επισημαίνονται ειδικά ως τέτοια.

02/2017 HB-2309-D01-001

© 2017 QIAGEN, με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος



---

Παραγγελίες [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Τεχνική υποστήριξη [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Δικτυακός τόπος  
[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

---