

Februari 2017

QIAsymphony[®] DSP Circulating DNA Kit

Prestandaegenskaper

IVD

CE

MAT

937556

Innehåll

Prestandaegenskaper	4
Grundläggande prestanda	4
Körningsprecision	6
Ekvivalent prestanda för 2 ml- och 4 ml-protokoll	6
Storleksfördelning	7
Eluatstabilitet	9

QIAasymphony DSP Circulating DNA-systemet utgör ett bruksfärdigt in vitro-system för kvalitativ rening av humant cirkulerande cellfritt DNA (ccfDNA) från human plasma och urin.

QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit är avsett att användas endast i kombination med QIAasymphony SP-instrumentet.

QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit tillhandahåller reagens för helautomatisk och simultan rening av humant ccfDNA från många olika humana plasmatyper (antikoagulerade med EDTA eller citrat såväl som plasma från ccfDNA-stabiliserade blodprovsvrör) och human urin (stabiliserad och icke-stabiliserad). Det finns inga etablerade prestandaegenskaper för varje blodprovsvrör utan dessa måste valideras av användaren.

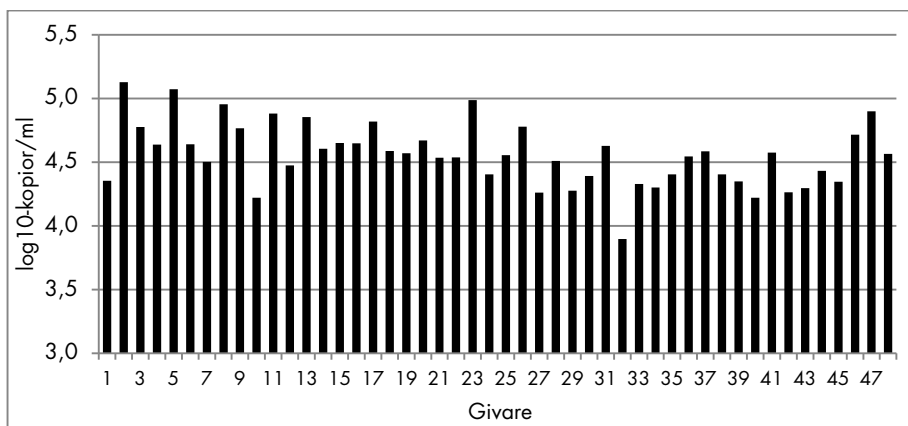
Renat ccfDNA är kompatibelt med många olika nedströmsapplikationer. QIAasymphony SP utför alla steg i reningsproceduren. I en enda körning behandlas upp till 96 prover i satser om 24. Urinprover kan behöva förbehandlas manuellt.

Prestandaegenskaper

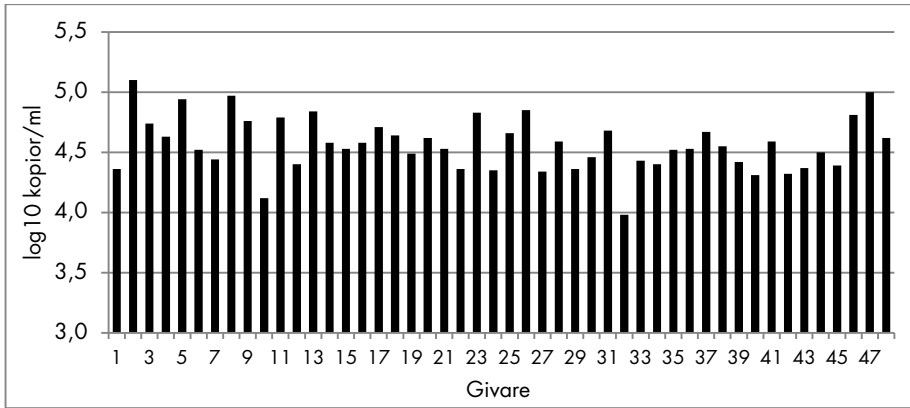
Grundläggande prestanda

Den grundläggande prestandan för QIASymphony DSP Circulating DNA Kit utvärderades för 48 enskilda givare av ccfDNA som extraherats från 4 ml stabiliserad plasma och 4 ml EDTA-plasma och 4 ml stabiliserad urin. Utbytet av ccfDNA bestämdes med en intern realtids-PCR-anlys för 18S ribosomalt RNA-kodningssekvensen.

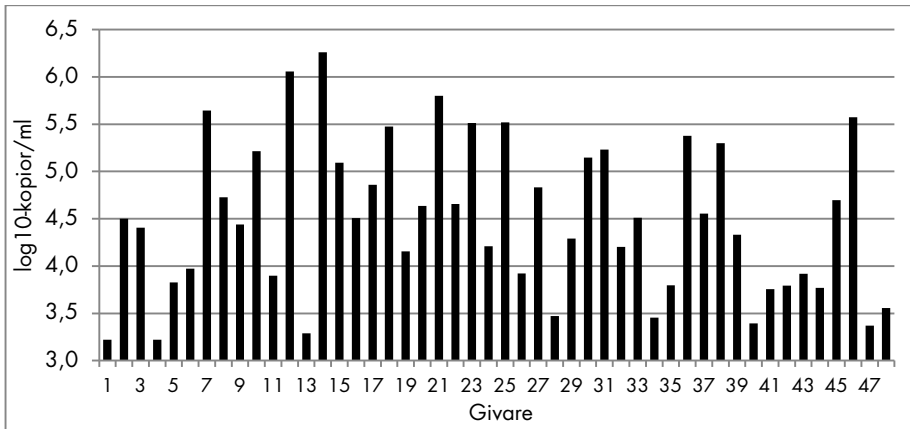
Skillnaden i utbyten (log₁₀-kopior/ml) i figur 1 (4 ml stabiliserad plasma), figur 2 (4 ml EDTA-plasma) och figur 3 (4 ml stabiliserad urin) återger de starka givarberoende koncentrationerna av ccfDNA som brukar hittas i samma volym av de respektive provmaterialen. Utbytet av ccfDNA mellan stabiliserad plasma och EDTA-plasma visar ett starkt samband för de 48 enskilda givarna vid användning av plasma från två olika typer av BCT (figur 1 och figur 2).



Figur 1. Utbytet av ccfDNA från plasma från 48 enskilda givare: ccfDNA-stabiliserade blodprovsvrör. Blod från 48 enskilda givare tappades i ccfDNA-stabiliserade blodprovsvrör. Man extraherade ccfDNA från 4 ml plasma med QIASymphony DSP Circulating DNA Kit och ccfDNA-utbytet kvantifierades med en intern realtids-PCR-anlys för 18S-kodningssekvensen. Resultat beräknades som målkopior per milliliter plasma som testats.



Figur 2. Utbytet av cfDNA från plasma från 48 enskilda givare: EDTA-blodprovsvrör. Blod från 48 enskilda givare tappades i EDTA-blodprovsvrör. Man extraherade cfDNA från 4 ml plasma med QIASymphony DSP Circulating DNA Kit och cfDNA-utbytet kvantifierades med en intern realtids-PCR-analys för 18S-kodningssekvensen. Resultat beräknades som målkopior per milliliter plasma som testats.



Figur 3. Utbytet av cfDNA från stabiliserad urin från 48 enskilda givare. Urin från 48 enskilda givare stabiliserades omedelbart efter insamling. Man extraherade cfDNA från 4 ml urin med QIASymphony DSP Circulating DNA Kit och cfDNA-utbytet kvantifierades med en intern realtids-PCR-analys för 18S-kodningssekvensen. Resultat beräknades som målkopior per milliliter urin som testats.

Körningsprecision

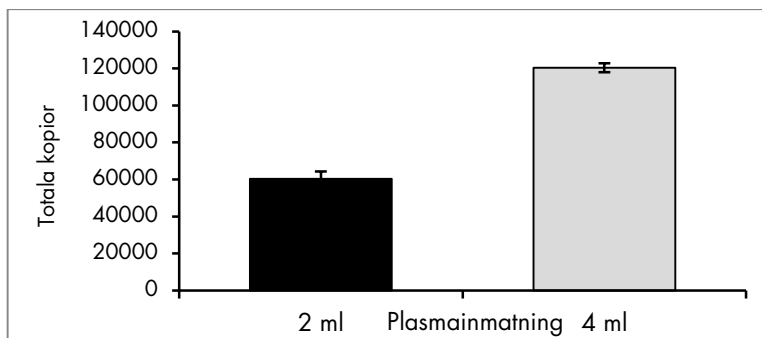
Variationskoefficienter (CV) bestämdes för extraktionen av humant ccfDNA från EDTA-plasma. För precisionsanalys kvantifierades ccfDNA med en intern realtids-PCR-analys för den 18S ribosomala kodningssekvensen. Totalt utfördes 10 QIASymphony-körningar, var och en med 4 batcher (8 replikat per batch). Precisionsdata visas i tabell 1.

Tabell 1. Analys av precisionsberäkningar

Precision	CV (%)
Inom batch	11,67
Repeterbarhet	13,14
Intermediär precision	13,14
Total precision	14,12

Ekvivalent prestanda för 2 ml- och 4 ml-protokoll

Ekvivalent prestanda för protokoll för 2 ml- och 4 ml-provinmatning utvärderades för QIASymphony DSP Circulating DNA Kit med endogent ccfDNA som extraherats från en human EDTA-plasmapool. Totalt 8 oberoende QIASymphony-körningar gjordes, var och en i 4 batcher med 8 replikat per batch. Det linjära intervallet för QIASymphony DSP Circulating DNA Kit-proceduren bestämdes för 18S-kodningssekvensen med en intern realtids-PCR-analys (figur 4). Kvoten för skillnaden mellan 2 ml- och 4 ml-protokollen visas i tabell 2. (Referensprotokollet är 4 ml-provinmatning).



Figur 4. Ekvivalent prestanda med användning av protokoll för 2 ml- och 4 ml-provinmatning. Det linjära intervallet för ccfDNA-protokollet bestämdes med 2 ml- och 4 ml-protokoll. Utbytet av ccfDNA kvantifierades med en intern realtids-PCR-analys för 18S-kodningssekvensen. Resultat beräknades som totala kopior per protokoll.

Tabell 2. Skillnad mellan 2 ml- och 4 ml-protokoll (N = 256)

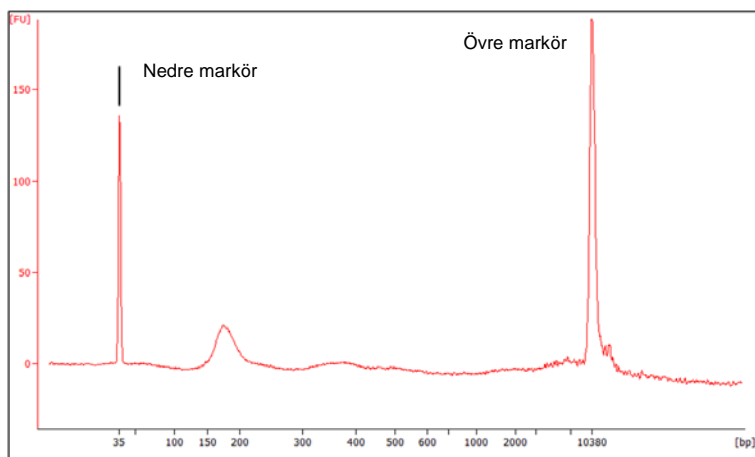
Parameter	Värde
Uppskattad kvot för geometriskt medelvärde i beräknade kopior/ml	1,01
Nedre 95 % konfidensgräns	0,92
Övre 95 % konfidensgräns	1,11

Prestandan för protokoll för 2 ml- och 4 ml-provinmatning är ekvivalent, uppmätt i beräknade kopior/ml.

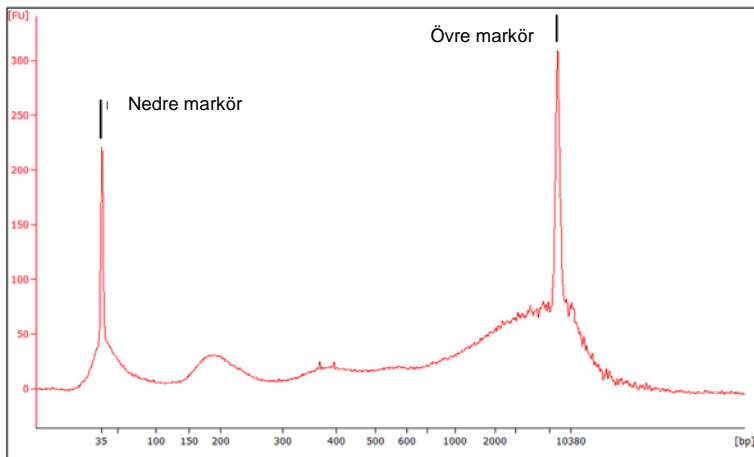
Storleksfördelning

För att utvärdera storleksfördelningen av provresultat extraherades ccfDNA från en provinmatning på 4 ml med QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit, eluerades i 75 µl och därefter utsattes 1 µl av eluatet för storleksanalys med Agilent 2100 Bioanalyser och ett Agilent High Sensitivity DNA Chip. Totalt utfördes 5 fristående replikat. En representativ DNA-profil visas för plasma i figur 5 och för stabiliserad urin i figur 6.

Elektroferogrammet för plasma i figur 5 visar den frekvent observerade toppen vid ~160 bp, varierande från 145 bp till 196 bp, vilket är inom intervallet för längden av histonbundet DNA i nukleosomen. Elektroferogrammet för urin i figur 6 visar att den vanligaste toppen vid ~160 bp är bredare och varierar från ~145 bp till 250 bp. Dessutom finns det en andra topp för urin som varierar från ~20 bp till 100 bp (vid nivån för den nedre markörtoppen) vilket visar på en ccfDNA-fraktion med en högre grad av fragmentering. I figur 6 visas även ett stort antal långa DNA-fragment från ~ 2 kb. Hög förekomst av sådana genomiska DNA-fragment återfinns ofta i urinprov och beror sannolikt på genomisk DNA-frisättning från celler som finns i urin.



Figur 5. Storleksfördelning av ccfDNA från plasma (Bioanalyzer-profil). Man extraherade ccfDNA från 4 ml EDTA-plasma med QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit; 1 µl eluat utsattes för en analys med Agilent High Sensitivity DNA Chip. X-axel: basparsstorlek (bp); Y-axel: fluorescensenheter (FU).

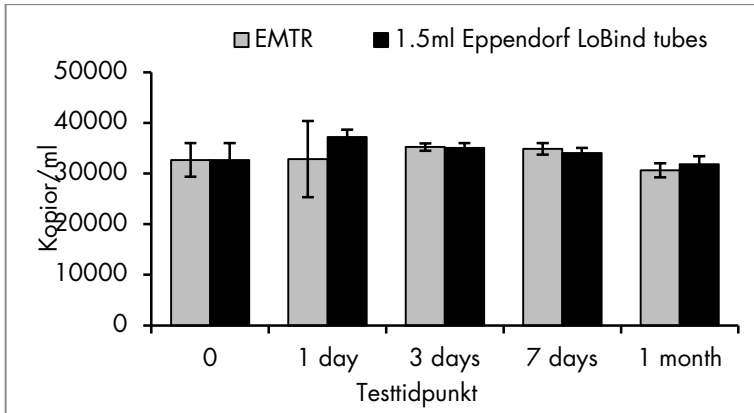


Figur 6. Storleksfördelning av ccfDNA från urin (Bioanalyser-profil). Man extraherade ccfDNA från 4 ml stabiliserad urin med QIA Symphony DSP Circulating DNA Kit; 1 µl eluat utsattes för en analys med Agilent High Sensitivity DNA Chip. X-axel: basparsstorlek (bp); Y-axel: fluorescensenheter (FU).

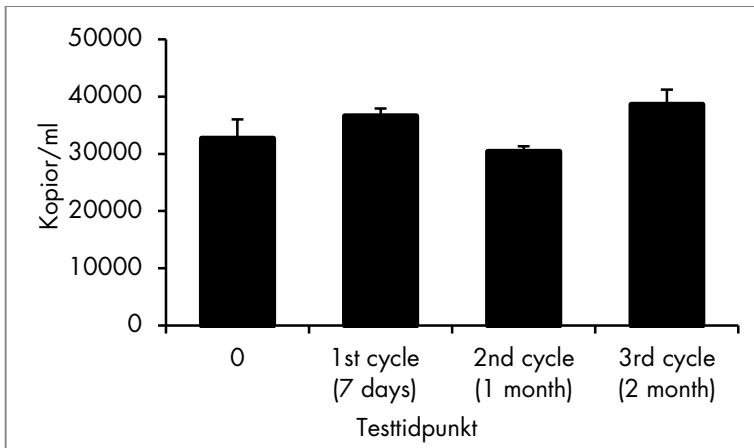
Eluatstabilitet

Eluatstabilitet för QIA Symphony DSP Circulating DNA Kit utvärderades med extraherat ccfDNA från en human EDTA-plasmapool. Eluaten förvarades i 2 olika elueringsställsformat: QIAGEN EMTR (Elution Microtubes CL 96; katalognr 19588) och 1,5 ml Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock-rör. Eluaten analyserades i replikat om 8. Stabilitet för DNA i eluat bestämdes med en intern realtids-PCR-analys för 18S ribosomalt RNA-kodningssekvensen.

Eluatstabilitet vid 2–8 °C påverkades inte av förvaringsperiodens längd upp till en månad, eller av förvaringsformatet (figur 7). Stabilitet för DNA i LoBind-rör påverkades inte av förvaring vid –15 till –30 °C som innefattade 3 frysnings-tiningscykler efter 7 dagar, en månad och två månader (figur 8).



Figur 7. Stabilitet för ccfDNA i eluat som förvarats vid 2–8 °C i 2 rörformat. Man extraherade ccfDNA från EDTA-plasma med QIASymphony DSP Circulating DNA Kit och förvarade den vid 2–8 °C för olika testtidpunkter. Utbytet av ccfDNA kvantifierades med en intern realtids-PCR-analys för 18S-kodningssekvensen. Resultat beräknades som målkopior per milliliter plasma som testats.



Figur 8. Stabilitet för ccfDNA i eluat som förvarats vid –15 till –30 °C inklusive 3 frysnings-tiningscykler. Man extraherade ccfDNA från EDTA-plasma med QIASymphony DSP Circulating DNA Kit och förvarade den vid –15 till –30 °C i 1,5 ml Eppendorf LoBind-rör. Utbytet av ccfDNA bestämdes vid 3 testtidpunkter med samma eluat vid 3 frysnings-tiningscykler. Utbytet av ccfDNA kvantifierades med en intern realtids-PCR-analys för 18S-kodningssekvensen. Resultat beräknades som målkopior per milliliter plasma som testats.

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive QIAGEN-kithandbok eller -bruksanvisning. QIAGEN-kithandböcker och bruksanvisningar finns att tillgå på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN:s tekniska serviceavdelning eller från lokal återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QAsymphony® (QIAGEN Group); Eppendorf® (Eppendorf AG).

Registrerade namn, varumärken osv. som används i detta dokument, även när de inte uttryckligen har markerats som sådana, får inte betraktas som oskyddade i lag.

02/2017 HB-2309-D01-001

© 2017 QIAGEN, med ensamrätt.

