

2021. április

QIAsymphony® SP készülék használati útmutató (Protokoll lap)

A PreAnalytiX QIAsymphony PAXgene® Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) és a PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD; **CE**0123) termékekhez

PAXgene Blood ccfDNA IVD protokollok:

PAXcircDNA_2400, PAXcircDNA_4800, PAXcircDNA_PrimaryTube_2400 és PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

Általános információk

In vitro diagnosztikai használatra.

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) a QIASymphony SP készülékkel együtt használva a cirkuláló, sejtmentes DNS (ccfDNA/csDNS) automatizált izolálására és tisztítására szolgál a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) vérvételi csőbe levett humán vénás teljes vérből generált plazmából.

A tisztítási eljárást a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) vérvételi csőbe levett humán vénás teljes vérből generált plazmára optimalizálták. A vérvételi eljárásra vonatkozó utasításokat lásd a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) Használati útmutatójában, a termék honlapján (www.PreAnalytiX.com).

Négy különböző protokollt hoztak létre a csDNS automatizált izolálására PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) vérvételi csőbe levett humán vénás teljes vérből generált plazmából. A standard verziókban 2,4 vagy 4,8 ml bevitt plazmaminta-térfogat választható ki. Ezenkívül, az elsődleges csőkezelési protokollok lehetővé teszik a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) csövek a QIASymphony SP készülékbe való közvetlen behelyezését. Az elsődleges csőkezelési protokollok 2,4 vagy 4,0 ml bevitt plazmaminta-térfogatokhoz állnak rendelkezésre (lásd a következő oldalakon lévő táblázatokat).

Minden egyes csDNS kinyeréshez használt plazmatérfogat megkívánja a vonatkozó mintabeviteli térfogatot (a holttérfogatot is beleértve), valamint a vonatkozó protokoll szkriptet, az 1. táblázat összesítése szerint.

1. táblázat. Általános információk a QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) használatához

Mintaanyag	PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) vérvételi csővekbe levett vénás teljes vérből generált humán vérplazma			
Kit	QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), 192, katalógusszám: 768566			
Szoftververzió	5.0-s vagy későbbi verzió			
Protokollok	Protokoll vonal	Bevitt mintatérfogat (a holttérfogatot is beleértve) (ml)	A csDNS kinyeréshez használt mintatérfogat (ml)	(Assay Control_) Protokoll neve
Standard		2,8	2,4	(ACS_) PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	(ACS_) PAXcircDNA_4800
Elsődleges cső kezelése		a „selection tool” mérőeszköz szerint	2,4	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000

A plazma előkészítése elvégezhető (A) a standard dupla centrifugálásos protokoll használatával, vagy (B) az elsődleges csövek kezelése révén: az egyetlen egyszer centrifugált PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) csövek közvetlen feldolgozása a QIAAsymphony SP berendezésen.

A) Plazma előkészítése vérből a standard protokollokhoz

1. Centrifugálja a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) csövet szobahőmérsékleten (15–25 °C-on) 15 percig 1600–3000 × g mellett, kiegyensúlyozott lengőkosaras centrifugával. Ha a fékezés preferált, ajánlott közepes szintű fékezést alkalmazni, és azt is validálni kell a konkrét munkafolyamathoz.

Megjegyzés: A centrifugálás előtt hűtőszekrényben tárolt minták esetén a legjobb teljesítmény érdekében a feldolgozás előtt hagyja, hogy a csövek szobahőmérsékletűre melegedjenek.

2. Pipettázza a vérplazmát egy 15 ml-es, kúpos aljú centrifugacsőbe (nem része a kitnek), ügyelve arra, hogy ne kavარja föl az összegyűlt sejtes frakciót.
3. Centrifugálja a 15 ml-es kúpos aljú centrifugacsövet 10 percig szobahőmérsékleten (15–25 °C-on) 1600–3000 × g mellett egy kiegyensúlyozott centrifugában.

Megjegyzés: Ne lépje túl a másodlagos cső gyártója által ajánlott maximális centrifugálási sebességet.

4. Pipettázza a szükséges plazmatérfogatot (lásd a „Mintatérfogat” szakaszt a 5. oldalon) egy 14 ml, 17 x 100 mm kerek aljú polisztirol csőbe, ügyelve arra, hogy ne kavარja fel az esetlegesen meglévő reziduális sejtpelletet.
5. Helyezze át a kerek aljú, plazmamintát tartalmazó csövet a csőtartóba, és tölts be a csőtartót a QIAAsymphony SP készülék mintabeviteli fiókjába.

Megjegyzés: A maximális csDNS hozam érdekében dolgozza fel az elérhető maximális plazmatérfogatot.

Megjegyzés: Kerülje a habképződést a plazmamintákban vagy plazmamintákon. A mintákon lévő hab, vagy a mintákban lévő buborékok nem megfelelő mintatérfogat pipettázásához vezethetnek.

Megjegyzés: A vérvétel és centrifugálás után a vérplazma legfeljebb 7 napig tárolható 2–8 °C között. Huzamosabb idejű tároláshoz javasoljuk, hogy fagyasszon le aliquotokat.

Megjegyzés: Ha korábban eltárolt (pl. 2–8 °C között hűtött, vagy –20 vagy –70 °C/–80 °C hőmérsékleten fagyasztott) plazmamintákat használ, ezeket szobahőmérsékletűre (15–25 °C) kell melegíteni a futtatás indítása előtt.

B) Plazma előkészítése vérből elsődleges cső kezeléséhez a QIAAsymphony SP készüléken

1. Centrifugálja a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) csövet szobahőmérsékleten (15–25 °C-on) 15 percig 3000 × g mellett, kiegyensúlyozott lengőkosaras centrifugával.

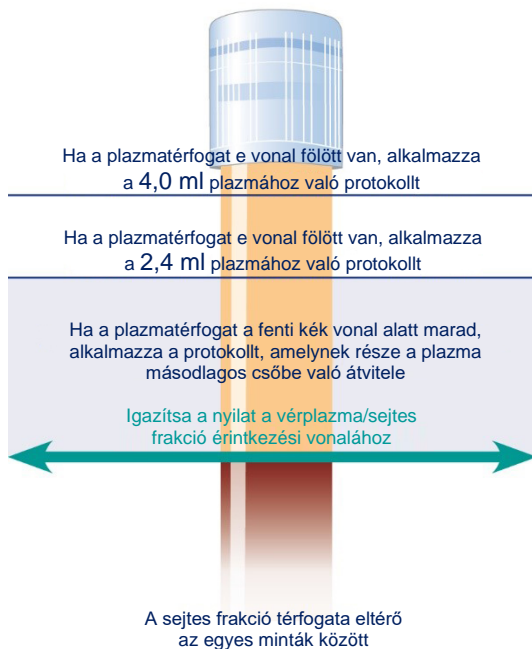
Ha a fékezés preferált, ajánlott közepes szintű fékezést alkalmazni, és azt is validálni kell a konkrét munkafolyamathoz.

Megjegyzés: A centrifugálás előtt hűtőszekrényben tárolt minták esetén a legjobb teljesítmény érdekében a feldolgozás előtt hagyja, hogy a csövek szobahőmérsékletűre melegedjenek.

- Miután eltávolította a csöveket a centrifuga kosarából, mérje meg minden egyes csőben a plazma térfogatát a kit részét képező PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool eszközzel (1. ábra). Amikor eltávolítja a csövet a centrifugából, az eszközön lévő kékesöld nyíl a vérplazma/sejtes frakció érintkezési felületéhez igazodik. A kék vonalak jelzik, hogy a plazmaszint elég-e a 2,4 vagy 4,0 ml-es elsődleges cső kezelési protokolljához. A 2,4 ml-es protokollhoz minimum 2,3 cm magas, a 4,0 ml-es protokollhoz pedig minimum 3,4 cm magas plazmaoszlop szükséges.



Határozza meg a PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) csövek a QIASymphony SP készülékben való közvetlen feldolgozásához optimális protokollt.



1. ábra: Plazma térfogat meghatározása a PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool eszköz segítségével (Az ábra csak szemléltetési célt szolgál; kérjük, ne nyomtassa ki, mert a tényleges méret eltérő – ne használja a mintákhoz).

Megjegyzés: Amennyiben nem különült el élesen a vérplazma és a sejtes frakció, vagy a centrifugából való eltávolítás során véletlenül összekeveredtek a fázisok, a centrifugálást meg kell ismételni.

- Távolítsa el a Hemogard Closure Cap zárókupakot a PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) csövekről, mielőtt behelyezné azokat a QIASymphony SP készülékbe a közvetlen csDNS kinyeréshez.
- Helyezze be az elegendő plazmát tartalmazó, nyitott PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) csöveket a csőtartóba, majd helyezze azt a QIASymphony SP készülék mintabeviteli fiókjába.

Mintatérfogot

Annak biztosítására, hogy a szabályos munkafolyamatban 2,4 ml (PAXcircDNA_2400 protokoll), illetve 4,8 ml (PAXcircDNA_4800 protokoll) mintatérfogot kerüljön a készülékbe, szükséges további 0,4 illetve 0,5 ml holtterefogat is, ami azt jelenti, hogy minimum 2,8 illetve 5,3 ml mintabevitelről kell gondoskodnia. Amennyiben csak a nevezett 2,8 vagy 5,3 ml-nél kisebb plazmatérfogatok állnak rendelkezésre, a protokollba integrált **Less Sample mode** (kevesebb minta üzemmód) funkció lehetővé teszi, hogy a felsoroltaknál kisebb plazmatérfogatokat helyezzen a készülékbe. Ebben az esetben a készülék kevesebb mintatérfogatot transzferál, és a rendszer dokumentálja az átvitt térfogatot az eredményfájlban. Ezenkívül, a kérdéses minták **nem egyértelmű** jelölést kapnak (140043-as hibakód, Enable Less Sample mode („kevesebb minta üzemmód” engedélyezve)). A minimális plazmabeviteli térfogat, amellyel engedélyezhető a **Less Sample mode** („kevesebb minta üzemmód”): 1,6 ml (PAXcircDNA 2400 protokoll), illetve 4,1 ml (PAXcircDNA 4800 protokoll). Ha ennél kisebb mintatérfogatot biztosít, a minták nem kerülnek feldolgozásra, hanem **érvénytelen** jelölést kapnak. Az elsődleges csőkezeléses munkafolyamathoz a megfelelő mintatérfogatot garantálja a kit részét képező PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool eszköz használata; a leírását lásd a „B) Plazma előkészítése vérből elsődleges cső kezeléséhez a QIASymphony SP készüléken” szakaszban, a 3. oldalon.

„Sample” (Minta) fiók

2. táblázat: Információk a „Sample” (Minta) fiók beállításához*

Mintatípus	PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) vérvételi csövekbe levett vénás teljes vérből generált humán vérplazma
Bevitt mintatérfogot (a holtterefogatot is beleértve)	2,8 ml (PAXcircDNA_2400); 5,3 ml (PAXcircDNA_4800) Lásd: PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Lásd: PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000)
Elsődleges mintacsövek	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm (BD™, katalógusszám: 768165)
Másodlagos mintacsövek	14 ml 17 x 100 mm kerek aljú polisztirol csövek (Corning®, katalógusszám: 352051)
Inzertek	n.a.
Egyéb	Proteinase K (proteináz K), szükséges a 14 ml 17 x 100 mm kerek aljú polisztirol csövekhez (Corning, katalógusszám: 352051); csak a csőtartó 1. és 2. pozíciójában használja (az A nyílásban)

* Lásd még az elérhető laborszerek listáját a Product Resources (Termékforrások) fülön, a www.qiagen.com címen.
n/a, nem alkalmazható.

Mintacsövek a csőtartóhoz

3. táblázat: Információk a csőtartó beállításához*

Érintőké- perryőn megjelenő név	Gyártó	Anyag	Kat. szám példa	Inzert	PAXcirc DNA_ 2400	PAXcirc DNA_ 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	Inzert nem szükséges	2,8 ml† 1,6 ml‡§ (Enable Less Sample mode) („kevesebb minta üzemmod” engedélyezve)	5,3 ml† 4,1 ml‡§ (Enable Less Sample mode) („kevesebb minta üzemmod” engedélyezve)	n.a.	n.a.
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100	BD	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm	768165	Inzert nem szükséges	n.a.	n.a.	Lásd: PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	

* Lásd még az elérhető labor eszközök listáját a Product Resources (Termékforrások) fülön, a www.qiagen.com címen.

† Korábban a BD biztosította.

‡ A protokoll által a mintánként előírt minimális mintatérfogat (a holtterefogatot is beleértve); vérrögészlelés lehetséges.

§ Csökkentett minimális mintatérfogat az **Enable Less Sample mode** („kevesebb minta üzemmod” engedélyezése) használatával. Az **Enable Less Sample mode** („kevesebb minta üzemmod” engedélyezése) úgy lett kialakítva, hogy felhasználja az összes rendelkezésre álló folyadékot, folyadékszint- és vérrögészleléssel kombinálva. Az **Enable Less Sample mode** („kevesebb minta üzemmod” engedélyezve) a minták **nem egyértelmű** jelölését eredményezi.

n/a, nem alkalmazható.

„Reagents and Consumables” (Reagensok és fogyóeszközök) fiók

A1 és/vagy A2 pozíció	Reagenskazetta
B1 pozíció	n.a.
Hegyalvány-tartó, 1–17.	Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 200 µl vagy 1500 µl
1–4. számú egységdoboz-tartó	Minta-előkészítő kazettákat vagy 8-Rod Covers rúdburkolatokat tartalmazó egységdobozok

n.a. = nem alkalmazható.

„Waste” (Hulladék) fiók

1–4. számú egységdoboz-tartó	Üres egységdobozok
Hulladékgyűjtő zsák tartója	Hulladékgyűjtő zsák
Folyékonyhulladék-gyűjtő palack tartója	Üres folyékonyhulladék-gyűjtő palack

„Eluate” (Eluátum) fiók

Gyártó	Anyag	Kat. szám példa	Kategória	Érintőképernyőn megjelenő név	Adapter az 1-es elúciós nyíláson (hűtött)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	A kit részeként szállítva (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, katalógusszám: 9020674 (1-es hűtőnyílás)
				SL#E1415-2231** T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS (1-es hűtőnyílás)
				SL#E1415-2231 T1.5 Screw	1,5/2,0 ml-es QS (2–4-es nem hűtő nyílások)

* Olyan laborszakozt jelöl, amely vonalkóddal jelölt hűtőadapter használatával lehűthető (a QIASymphony AS készülékre átvihető és azon használható).

** Olyan laborszakozt jelöl, amely vonalkóddal nem jelölt hűtőadapter használatával lehűthető (a QIASymphony AS készülékre nem vihető át, és azon nem használható).

Szükséges műanyag eszközök

Műanyag eszköz	PAXcircDNA_2400		PAXcircDNA_4800	
	PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	Egy mintasorozat, 24 minta*	Két mintasorozat, 48 minta*	Egy mintasorozat, 24 minta*	Két mintasorozat, 48 minta*
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
	Három mintasorozat, 72 minta*	Négy mintasorozat, 96 minta*	Három mintasorozat, 72 minta*	Négy mintasorozat, 96 minta*
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

* Ha mintasorozatonként 24-nél kevesebb mintát használ, csökken a futtatásonként szükséges egyszer használatos, szűrős pipettahegyek száma. Egynél több leltárellenőrzés elvégzéséhez további egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyekre van szükség.

† Egy hegytartó állványon 32 darab szűrős pipettahegy van.

†† Szűrős pipettahegyek száma reagenskazettánként, az 1 leltárellenőrzéshez szükséges szűrővel ellátott hegyeket is beleszámítva.

§ Egy egységdoboz 28 minta-előkészítő kazettát tartalmaz.

¶ Egy egységdoboz tizenkét 8-Rod Covers rúdburkolatot tartalmaz.

Megjegyzés: A beállítások függvényében a szűrővel rendelkező hegyek megadott száma eltérhet az érintőképernyőn megjelenített számoktól. A lehető legnagyobb számú hegy betöltését javasoljuk.

Elúciós térfogat

Kiválasztott elúciós térfogat (µl)*	Kezdeti elúciós térfogat (µl)†
60	75

* Ez a minimálisan hozzáférhető eluátumtérfogat a végleges elúciós csőben a QIAGEN EMT rack (katalógusszám: 19588) és 1,5 ml Sarstedt screw cap tubes (katalógusszám: 72.607) termékekhez. Egyéni esetekben az egyes mintákhoz tartozó eluátum végső térfogata akár 5 µl-rel kevesebb is lehet.

† Az a kezdeti elúciós puffertérfogat, amely ahhoz szükséges, hogy az eluátum tényleges térfogata megegyezzen a kiválasztott térfogattal.

A Proteináz K előkészítése az A nyílás 1-es pozíciójában (és szükség esetén a 2-es pozíciójában)

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) használatra kész proteináz K oldatot tartalmaz. A proteináz K szobahőmérsékleten (15–25 °C) tárolható. A huzamosabb ideig történő tároláshoz azt javasoljuk, hogy tartsa a proteináz K enzimes fiolákat hűtve, 2–8 °C között.

Mintaszám	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400*	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000*
8	1980 µl	2860 µl
24	3740 µl	6380 µl
48	6380 µl	11660 µl†
96	11660 µl†	23320 µl†

* Mintánként 110 µl térfogatra (2400 µl plazma esetén), vagy 220 µl térfogatra (4800/4000 µl plazma) van szükség, valamint további 1100 µl holtterfogatra [(n x 110 vagy 220 µl) + 1100 µl].

† Ha több mint 11 660 µl térfogatra van szükség, használjon egy második csövet (Corning, katalógusszám: 352051). A második csőnél további 1100 µl holtterfogatra van szükség.

Megjegyzés: A proteináz K-t tartalmazó csöveket csőtartóba kell helyezni. A proteináz K-t tartalmazó csőtartót a „Sample” (Minta) fiók „A” nyílásába, az 1-es és 2-es pozícióba kell helyezni. A 14 ml 17 x 100 mm kerek aljú polisztirol csövek (Corning, katalógusszám: 352051) használatát javasoljuk a Proteináz K enzimhez.

Átdolgozási előzmények

Dátum	Módosítások
R1, 2021. 04.	Első kiadás.
R2, 2021. 04.	„(CE 0123)” lecserélve normál formátumú szövegben az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökről szóló rendelet X. mellékletében meghatározott formai követelményeknek megfelelően

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN kit kézikönyvében vagy felhasználói kézikönyvében található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói kézikönyvei a www.qiagen.com webhelyen érhetők el, illetve a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

Védjegyek: 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 & Co.); Starlab® (Starlab International GmbH). A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvényi védelmen kívül esőnek, ha nem rendelkeznek külön jelöléssel.

04/2021 HB-2866-S01-002 © 2021 QIAGEN, minden jog fenntartva.

Rendelés: www.qiagen.com/shop | Műszaki támogatás: support.qiagen.com | Webhely: www.qiagen.com