

2021年4月

QIASymphony[®] SP

機器使用説明書

(プロトコール シート)

PreAnalytiX QIASymphony PAXgene[®] Blood
ccfDNA Kit (CE-IVD) および PreAnalytiX PAXgene
Blood ccfDNA Tube (CE-IVD、**CE0123**) 用

PAXgene Blood ccfDNA IVD プロトコール：

PAXcircDNA_2400、PAXcircDNA_4800、PAXcircDNA_PrimaryTube_2400、および PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

全般情報

体外診断用です。

QIAAsymphony SP 装置で使用する QIAAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) は、PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) に採取した、ヒト静脈全血から生成した血漿中の循環無細胞 DNA (ccfDNA) の自動単離・精製を目的としています。

この精製手順は、PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) に採取した、ヒト静脈全血から生成した血漿で使用するよう最適化されています。採血手順についての説明は、製品ホームページ (www.PreAnalytiX.com) の PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) の製品説明書を参照してください。

PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) に採取したヒト静脈全血から生成した血漿からの ccfDNA の自動単離用に 4 種類のプロトコールが設定されています。標準バージョンでは、サンプルインプット量として血漿 2.4 または 4.8 ml を選択できます。また、一次チューブ処理プロトコールにより、QIAAsymphony SP 機器に PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) を直接設置できます。血漿 2.4 ml または 4.0 ml のサンプルインプット量についての一次チューブ処理プロトコールが利用できます (次ページの表を参照)。

ccfDNA 抽出に使用するそれぞれの血漿量には、表 1 に要約したとおり、空隙量や適切なプロトコールスクリプトを含めた適切なサンプルインプット量が必要です。

表 1. QIAAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) の使用についての全般情報

サンプル材料	PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) に採取したヒト静脈全血から生成したヒト血漿			
キット	QIAAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)、192、カタログ番号 768566			
ソフトウェアのバージョン	バージョン 5.0 以降			
プロトコール	プロトコールライン	サンプルインプット量 (空隙量含む) (ml)	ccfDNA 抽出に使用するサンプル量 (ml)	(Assay Control_) プロトコール名
	Standard	2.8	2.4	(ACS_) PAXcircDNA_2400
		5.3	4.8	(ACS_) PAXcircDNA_4800
	Primary tube handling	選択ツールに従う	2.4	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4.0	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000

血漿は、(A) 標準的な 2 回遠心分離プロトコール、または (B) 1 回遠心分離した 1 回のみ使用の PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) を QIAsymphony SP 機器で直接処理して（一次チューブ処理）調製できます。

A) 標準プロトコールの血液からの血漿調製

1. バランスをとったスイングアウトバケット遠心分離機を使用し、PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) を常温（15～25℃）、1600–3000×g で 15 分間遠心分離します。ブレーキをかける場合は中間レベルにすることをお勧めします。また、ご自身のワークフローについて検証してください。

注：遠心分離前に冷蔵保存していたサンプルの性能を最大限に引き出すため、処理前のチューブを常温まで戻させます。

2. 有核細胞画分を乱さないように注意して、血漿 15 ml をコニカル遠心チューブ（別売り）にピペットで移します。
3. バランスをとった遠心分離機を使用して、この 15 ml 円錐底遠心チューブを常温（15～25℃）、1600–3000×g で 10 分間遠心分離します。

注：二次チューブの製造元が推奨する遠心速度を超えないでください。

4. 残っている血液細胞ペレット（存在する場合）を乱さないように注意して、必要な量の血漿（5 ページの「サンプル量」（サンプル量）セクションを参照）を 14 ml、17x100 mm ポリスチレン製丸底チューブにピペットで移します。
5. 血漿サンプルを入れた丸底チューブをチューブキャリアに入れ、このチューブキャリアを QIAsymphony SP 機器のサンプルインプットボックスにロードします。

注：ccfDNA の収量を最大にするため、利用できる最大量の血漿を処理してください。

注：血漿サンプル中または血漿サンプル上に泡が発生しないようにしてください。サンプル表面に泡や気泡があると、ピペットで正しいサンプル量を採取できないことがあります。

注：採血および遠心分離後の血漿は、2～8℃で最長 7 日間保存できます。これより長期間保存する場合は、凍結させることをお勧めします。

注：保存してあった（2～8℃で保存、あるいは–20℃または–70℃/–80℃で凍結保存）血漿サンプルを使用する場合は、操作開始前に常温（15～25℃）に平衡化させてください。

B) QIAsymphony SP 機器での一次チューブ処理のための血液からの血漿調製

1. バランスをとったスイングアウトバケット遠心分離機を使用し、PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) を常温 (15~25°C) 、3000×g で 15 分間遠心分離します。ブレーキをかける場合は中間レベルにすることをお勧めします。また、ご自身のワークフローについて検証してください。

注：遠心分離前に冷蔵保存していたサンプルの性能を最大限に引き出すため、処理前のチューブを常温まで戻らせます。

2. キットに同梱の PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool で遠心分離機バケットから各チューブを取り出した後、血漿量を定量します (図 1)。遠心分離機からチューブを取り出す際に、ツールの青色の矢印を血漿と細胞の境界面に合わせます。この青線は、血漿レベルが 2.4 ml または 4.0 ml 一次チューブ処理プロトコルに十分かどうかを示しています。血漿の高さは、2.4 ml プロトコルには 2.3 cm 以上、4.0 ml プロトコルには 3.4 cm 以上である必要があります。



QIASymphony SP 機器で PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) を直接処理するのに最適なプロトコルを決定します。

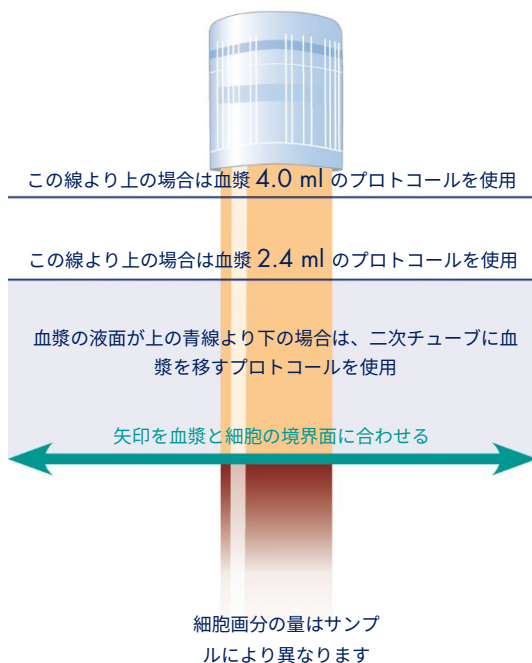


図 1. PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool を使用した血漿量測定 (この図は説明のみを目的としており、実際の大きさは異なるため、印刷してサンプルで使用しないこと)。

注：血漿と細胞がはっきりと分離されていない、または遠心分離機から取り出す際に誤って二層を混合した場合は、再度遠心分離してください。

3. Hemogard Closure Cap を PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) から取り外し、QIAasymphony SP 機器に入れて ccfDNA を直接抽出します。
4. 十分な量の血漿が入った、キャップを取り外した PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) をチューブキャリアに入れ、このチューブキャリアを QIAasymphony SP 機器のサンプルインプットボックスにロードします。

サンプル量

通常のワークフローで 2.4 ml (PAXcircDNA_2400 プロトコール) と 4.8 ml (PAXcircDNA_4800 プロトコール) のサンプルをこの機器で確実に移すには、それぞれ 0.4 ml および 0.5 ml の空隙量が必要です。つまり、サンプルインプット量をそれぞれ 2.8 ml 以上および 5.3 ml 以上とする必要があります。利用できる血漿量が 2.8 ml または 5.3 ml より少ない場合は、プロトコール機能に統合されている「Less Sample」(少量サンプル) モードで、一覧表より少ない量の血漿を移すことができます。この場合、機器が移すサンプル量は少なくなり、移した量が結果ファイルに記録されます。さらに、それぞれのサンプルに不明というフラグが付きます (エラーコード 140043、Enable Less Sample [少量サンプル有効化] モード)。Less Sample (少量サンプル) モードが有効になる最小血漿インプット量は 1.6 ml (PAXcircDNA 2400 プロトコール) および 4.1 ml (PAXcircDNA 4800 プロトコール) です。サンプル量がこれより少ない場合は、サンプルは処理されず、無効のフラグが付きます。一次チューブ処理ワークフローの適切なサンプル量は、キットに同梱の PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool を使用して確認します (3 ページの「B) QIAasymphony SP 機器での一次チューブ処理のための血液からの血漿調製」(QIAasymphony SP 機器での一次チューブ処理のための血液からの血漿調製) セクションに記載しています)。

「Sample」 (サンプル) ボックス

表 2. サンプルボックスセットアップ情報*

サンプルのタイプ	PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) に採取したヒト静脈全血から生成したヒト血漿
サンプルインプット量 (空隙量含む)	2.8 ml (PAXcircDNA_2400) 、 5.3 ml (PAXcircDNA_4800) PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) を参照 PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000) を参照
一次サンプルチューブ	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16x100 mm (BD™、カタログ番号 768165)
二次サンプルチューブ	14 ml 17x100 mm ポリスチレン製丸底チューブ (Corning®, カタログ番号 352051)
インサート	該当なし
その他	14 ml 17 x 100 mm ポリスチレン製丸底チューブ (Corning、カタログ番号 352051) ではプロテイナーゼ K が必要。チューブキャリアの位置 1 および位置 2 (スロット A) のみ使用

* www.qiagen.com の Product Resource (製品リソース) タブの使用可能な実験器具リストも参照してください。
該当なし：該当せず。

チューブキャリア用サンプルチューブ

表 3. チューブキャリアセットアップ情報*

タッチスクリーン上の名称	供給業者	器具	カタログ番号	インサート	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	インサート 不要	2.8 ml [‡] 1.6 ml [§]	5.3 ml [‡] 4.1 ml [§]	該当なし	該当なし
					(Enable Less Sample [少量サンプル有効化] モード)	(Enable Less Sample [少量サンプル有効化] モード)		
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100	BD	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16x100 mm	768165	インサート 不要	該当なし	該当なし	PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool 参照	

* www.qiagen.com の Product Resource (製品リソース) タブの使用可能な実験器具リストも参照してください。

[†] 従来 BD が供給。

[‡] 1 つのプロトコールで、1 サンプルあたりに必要な最小サンプル量 (空隙量含む)、血栓検出が可能。

[§] Enable Less Sample (少量サンプル有効化) モードを使用して最小サンプル量を低減。Enable Less Sample (少量サンプル有効化) モードは、液面レベルの検出および血栓検出と組み合わせて、利用可能なすべての液体を使用するよう設計されています。Enable Less Sample (少量サンプル有効化) モードではサンプルに「不明」のフラグが付きます。

該当なし：該当せず。

「Reagents and Consumables」 (試薬および消耗品) ボックス

位置 A1 または A2 (あるいは両方)	試薬カートリッジ
位置 B1	該当なし
チップラックホルダー1~17	使い捨てフィルターチップ、200 µl または 1500 µl
ユニットボックスホルダー1~4	サンプル調製カートリッジまたは 8-Rod Covers が格納されたユニットボックス

該当なし = 該当せず。

「Waste」 (廃棄物) ボックス

ユニットボックスホルダー1~4	空のユニットボックス
廃棄物バッグホルダー	廃棄物バッグ
廃液ボトルホルダー	空の廃液ボトル

「Eluate」 (溶出液) ボックス

供給業者	器具	カタログ番号例	カテゴリー	タッチスクリーン上の 名称	溶出スロットの アダプター1 (冷却)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	キットに同梱 (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 ウェル、カタロ グ番号 9020674 (冷却ス ロット 1)
				SL#E1415-2231** T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS (冷却スロット 1)
				SL#E1415-2231 T1.5 Screw	1.5/2.0 ml QS (非冷却ス ロット 2-4)

* バーコード付き冷却アダプターを用いて冷却可能な実験器具を示します (QIAsymphony AS で移動および使用可能)。

** バーコードのない冷却アダプターを用いて冷却可能な実験器具を示します (QIAsymphony AS で移動および使用不可)。

必要なプラスチック製品

プラスチック製品	PAXcircDNA_2400		PAXcircDNA_4800	
	PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	1つのバッチ、24 サンプル*	2つのバッチ、48 サンプル*	1つのバッチ、24 サンプル*	2つのバッチ、48 サンプル*
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
	3つのバッチ、72 サンプル*	4つのバッチ、96 サンプル*	3つのバッチ、72 サンプル*	4つのバッチ、96 サンプル*
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

* 各バッチで使用するサンプル数が24より少ない場合は、1回の分析に必要な使い捨てのフィルターチップの数が少なくて済みます。複数回の在庫スキャンの実施には、追加の使い捨てのフィルターチップが必要です。

† 1つのフィルターチップラックに32個のフィルターチップが入っています。

‡ 必要なフィルターチップの数には、1つの試薬カートリッジに対して在庫スキャンを1回行うのに必要なフィルターチップが含まれています。

§ 1つのユニットボックスに28個のサンプル調製カートリッジが入っています。

¶ 1つのユニットボックスに12個の8-Rod Coversが入っています。

注: 設定によっては、支給されたフィルターチップの数がタッチスクリーンの表示数と異なる場合があります。最大数のチップをロードすることをお勧めします。

溶出量

選択溶出量 (µl) *	初回溶出量 (µl) †
60	75

* QIAGEN EMT ラック (カタログ番号 19588) および 1.5 ml Sarstedt スクリューキャップチューブ (カタログ番号 72.607) 用の最終溶出チューブ中で操作可能な最小溶出量です。単一サンプルの最終溶出量は、それぞれの場合において、最大 5 µl 少ない量になる場合があります。

† 実際の溶出量と同じ選択量を確保するのに必要な溶出バッファーの初回量。

スロット A の位置 1（必要であれば位置 2 も）のプロテイナーゼ K の準備

QIAsymphony PAXgene Bllod ccfDNA Kit (CE-IVD) には、そのまま使用できるプロテイナーゼ K 溶液が含まれています。プロテイナーゼ K は常温 (15~25°C) で保存できます。長期間保存するには、プロテイナーゼ K 入りの酵素バイアルを 2~8°C で保存することをお勧めします。

サンプル番号	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†

* 110 µ (血漿 2400 µl) または 220 µl (血漿 4800/4000 µl) が各サンプルに必要です。さらに 1100 µl [(n x 110 µl または 220 µl) + 1100 µl] の空隙量が必要です。

† 11,660 µl より多い量が必要な場合は、2 本目のチューブ (Corning、カタログ番号 352051) を使用します。2 本目のチューブには、1100 µl の空隙量がさらに必要です。

注：プロテイナーゼ K を入れたチューブをチューブキャリアに配置します。プロテイナーゼ K を入れたチューブキャリアは、「Sample」 (サンプル) ボックスのスロット A の位置 1 および位置 2 に配置する必要があります。プロテイナーゼ K には 14 ml の 17 x 100 mm ポリスチレン製丸底チューブ (Corning、カタログ番号 352051) の使用をお勧めします。

改訂履歴

日付	変更
R1、04/2021	初版公開。
R2、04/2021	通常フォーマットテキストの「[CE 0123]」を IVDR Annex X 設計要件を満たすものに置き換え

ライセンスに関する最新情報や製品に固有の免責事項については、該当する QIAGEN キットのハンドブックまたはユーザーマニュアルをご覧ください。QIAGEN キットのハンドブックとユーザーマニュアルは、弊社ウェブサイト（www.qiagen.com）から入手できます。QIAGEN テクニカルサービスや最寄りの代理店でも入手可能です。

商標：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）。本文書で使用している登録済みの名称、商標などは、具体的な表示がない場合でも法的保護の対象からは外れません。

04/2021 HB-2866-S01-002 © 2021 QIAGEN、無断複写・転載を禁じます。

注文 www.qiagen.com/shop | テクニカルサポート support.qiagen.com | ウェブサイト www.qiagen.com