

Dicembre 2020

# Scheda del protocollo QIASymphony<sup>®</sup> SP

circDNA\_2000\_DSP\_V2 e circDNA\_4000\_DSP\_V2

Il presente documento è la scheda di protocollo del QIASymphony DSP Circulating DNA Kit,  
versione 2, R1

## Informazioni generali

Per uso diagnostico in vitro.

Questo protocollo è destinato alla purificazione del DNA libero circolante da plasma e urina umani freschi o congelati utilizzando il QIASymphony SP e il QIASymphony DSP Circulating DNA Kit.

<b>Kit</b>	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (n. cat. 937556)	
<b>Materiale campione</b>	Plasma umano: trattato con anticoagulante EDTA o citrato oppure ccfDNA stabilizzato Urina umana: stabilizzata o non stabilizzata	
<b>Nome del protocollo</b>	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
<b>Set di controllo dell'esame predefinito</b>	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
<b>Volume di eluizione</b>	60 µl	60 µl
<b>Versione del software richiesta</b>	Versione 4.0 o superiore	Versione 5.0 o superiore

## Cassetto "Sample" (Campione)

<b>Tipo di campione</b>	Plasma umano (vedere "Preparazione dei campioni") e Urina umana (stabilizzata o non stabilizzata)
<b>Volume del campione</b>	A seconda del tipo di provetta per campioni utilizzata Per maggiori informazioni, consultare l'elenco della plastica da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Provette per campioni primarie</b>	non pertinente
<b>Provette per campioni secondarie</b>	Per maggiori informazioni, consultare l'elenco della plastica da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Inserti</b>	non pertinente
<b>Altro</b>	La proteinasi K deve essere aggiunta nello slot A (posizione 1 e/o 2)

n/a = non applicabile.

## Preparazione della proteinasi K nel cassetto "Sample" (Campione)

Il QIASymphony DSP Circulating DNA Kit contiene soluzione di proteinasi K pronta per l'uso che può essere conservata a temperatura ambiente (15–25 °C).

**Nota:** le provette contenenti proteinasi K vengono collocate in un portaprovette. Le provette contenenti la proteinasi K devono essere collocate nelle posizioni 1 e/o 2 nello slot A del cassetto "Sample" (Campione). Per il tipo di provetta necessario, consultare l'elenco della plastica da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Numero di campioni *	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†

\* Per ogni campione sono necessari 110 µl per circDNA\_2000\_DSP o 220 µl per circDNA\_4000\_DSP, più un ulteriore volume vuoto di 1.100 µl [(n x 110 o 220 µl) + 1.100 µl].

† Per circDNA\_4000\_DSP: Se vengono processati più di 48 campioni, utilizzare una seconda provetta. Il volume massimo di caricamento per provetta è di 11.660 µl. Per la seconda provetta è necessario un volume vuoto supplementare di 1.100 µl.

## Cassetto "Reagents and Consumables" (Reagenti e materiali di consumo)

<b>Posizione A1 e/o A2</b>	Cartuccia reagenti
<b>Posizione B1</b>	non pertinente
<b>Supporto per rack per puntali 1-18</b>	Puntali con filtro monouso, 200 µl o 1500 µl
<b>Supporto per box unitari 1-4</b>	Box unitari contenenti cartucce per la preparazione dei campioni o 8-Rod Covers

n/a = non applicabile.

## Cassetto "Waste" (Materiali di scarto)

<b>Supporto per box unitari 1-4</b>	Box unitari vuoti
<b>Supporto per sacchetto dei materiali di scarto</b>	Sacchetto dei materiali di scarto
<b>Supporto per contenitore dei residui liquidi</b>	Contenitore dei residui liquidi vuoto

## Cassetto "Eluate" (Eluito)

<b>Rack per eluizione (si raccomanda di utilizzare lo slot 1, posizione di raffreddamento)</b>	Per maggiori informazioni, consultare l'elenco della plasticheria da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

## Plastica da laboratorio occorrente

### Protocollo circDNA\_2000\_DSP

Plastica da laboratorio	Un lotto 24 campioni*	Due lotti 48 campioni*	Tre lotti 72 campioni*	Quattro lotti 96 campioni*
<b>Puntali con filtro monouso, 200 µl††</b>	28	56	84	112
<b>Puntali con filtro monouso, 1500 µl††</b>	56	112	168	224
<b>Cartucce per la preparazione dei campioni‡</b>	15	30	45	60
<b>8-Rod Covers§</b>	3	6	9	12

\* L'impiego di meno di 24 campioni per lotto riduce il numero di puntali con filtro monouso necessari per ogni processo.

† Ci sono 32 puntali con filtro in ogni rack corrispondente.

†† La quantità di puntali con filtro necessari include i puntali con filtro per 1 scansione di inventario per ogni cartuccia reagenti.

‡ Ci sono 28 cartucce per la preparazione dei campioni in ogni box unitario.

§ Ci sono dodici 8-Rod Covers in ogni box unitario.

#### Protocollo circDNA\_4000\_DSP

Plastica da laboratorio	Un lotto 24 campioni*	Due lotti 48 campioni*	Tre lotti 72 campioni*	Quattro lotti 96 campioni*
Puntali con filtro monouso, 200 µl†‡	28	56	84	112
Puntali con filtro monouso, 1500 µl†‡	96	192	288	384
Cartucce per la preparazione dei campioni §	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

\* L'impiego di meno di 24 campioni per lotto riduce il numero di puntali con filtro monouso necessari per ogni processo.

† Ci sono 32 puntali con filtro in ogni rack corrispondente.

‡ La quantità di puntali con filtro necessari include i puntali con filtro per 1 scansione di inventario per ogni cartuccia reagenti.

§ Ci sono 28 cartucce per la preparazione dei campioni in ogni box unitario.

¶ Ci sono dodici 8-Rod Covers in ogni box unitario.

**Nota:** il numero di puntali con filtro può variare da quello visualizzato sul touch screen a seconda delle impostazioni. Si raccomanda di caricare la massima quantità possibile di puntali.

## Volume di eluizione

Volume di eluizione selezionato	Volume di eluizione iniziale
60 µl	75 µl

Il volume di eluizione viene selezionato sul touch screen. Il volume di eluizione medio disponibile è  $\geq 60$  µl. In singoli casi, il volume di eluato finale per i singoli campioni potrebbe essere inferiore anche di 5 µl rispetto al volume selezionato (ad es., 55 µl). Si consiglia di controllare l'effettivo volume di eluato quando si utilizza un sistema automatizzato di setup dell'esame che non verifica il volume di eluato prima del trasferimento.

## Conservazione degli eluati

Si consiglia di rimuovere la piastra per eluizione dal cassetto "Eluate" (Eluito) subito dopo la conclusione del processo. Le piastre per eluizione possono essere lasciate nel QIASymphony SP al termine del processo il giorno seguente (massimo 16 ore, inclusa la durata del processo stesso; condizioni ambientali raccomandate: 18–26 °C e umidità relativa del 20–75%). In base alla temperatura e al grado di umidità, l'eluato potrebbe essere esposto a formazione di condensa o evaporazione.

Dopo la preparazione dei campioni, è possibile conservare gli eluati a 2–8 °C fino a 1 mese. Per la conservazione a lungo termine, gli eluati possono essere conservati da -30 a -15 °C o da -90 a -65 °C. Gli eluati congelati non devono essere scongelati più di 3 volte.

## Preparazione dei campioni

Durante la manipolazione di sostanze chimiche, è opportuno indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per maggiori informazioni, consultare le schede di dati di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) disponibili presso il fornitore.

### Punti importanti prima di iniziare

- Evitare la formazione di schiuma all'interno o sui campioni.
- I campioni devono essere portati a temperatura ambiente (15–25 °C) prima di avviare la procedura.

### Plasma umano

È possibile utilizzare campioni di sangue trattati con EDTA oppure citrato come anticoagulante per la preparazione del plasma. Si può utilizzare anche plasma preparato per provette di prelievo ematico per stabilizzazione del ccfDNA. Il plasma viene generato come specificato dal produttore.

Se si utilizza EDTA o citrato come anticoagulante, si raccomanda di eseguire la separazione del plasma subito dopo la donazione di sangue.

Per determinate applicazioni a valle potrebbe essere necessario escludere o ridurre al minimo gli acidi nucleici dalle vescicole. In tali casi, si consiglia di eseguire una fase di centrifugazione ad alta velocità a 16.000 x g per 10 minuti a temperatura ambiente (15–25 °C) dopo la generazione di plasma iniziale.

Dopo il prelievo e la centrifugazione, il plasma può essere conservato a temperatura ambiente fino a 7 giorni oppure a 2–8 °C fino a 14 giorni. Per intervalli di conservazione più lunghi si consiglia di congelare le aliquote a -20 °C o -80 °C. Il plasma congelato non deve essere scongelato più di 3 volte. Il congelamento–decongelamento ripetuto causa la denaturazione e la precipitazione delle proteine, con la conseguente riduzione delle rese degli acidi nucleici liberi circolanti. Se nei campioni sono visibili dei crioprecipitati, centrifugare a 6.800 x g per 3 minuti a temperatura ambiente, (15–25 °C) e trasferire i supernatanti in una provetta per campioni secondaria senza disturbare i pellet (vedere l'elenco della plastiche da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)). Avviare immediatamente il processo di purificazione.

## Urina umana

A causa della rapida degradazione del DNA libero circolante dopo la raccolta di urina, si raccomanda vivamente di stabilizzare subito i campioni.

### Urina umana stabilizzata

L'urina stabilizzata può essere conservata a temperatura ambiente (15–25 °C) o a 2–8 °C fino a 7 giorni. Per intervalli di conservazione più lunghi si consiglia di congelare le aliquote da -30 a -15 °C o da -90 a -65 °C.

I campioni di urina stabilizzata non richiedono alcun pretrattamento. Dopo la stabilizzazione, si consiglia di centrifugare i campioni di urina a bassa velocità (1.900 x g) per 10 minuti a temperatura ambiente (15–25 °C) per eliminare le cellule prima dell'estrazione del DNA libero circolante. Se dopo la centrifugazione nei supernatanti sono visibili dei precipitati, riscaldare i campioni a 25 °C in un bagno d'acqua per dissolverli. Prima di avviare un processo, trasferire i campioni di urina stabilizzati in una provetta per campioni secondaria, quindi caricare la provetta sul portacampioni (vedere l'elenco della plastiche da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### Urina umana "non stabilizzata"

Prima di avviare un protocollo che richiede il Buffer ATL, controllare se si è formato del precipitato nel Buffer ATL. Se necessario, scioglierlo riscaldando il tampone a 70 °C e agitando delicatamente in un bagno d'acqua. Aspirare le bolle d'aria dalla superficie del Buffer ATL.

**Nota:** il Buffer ATL (Buffer ATL, 4 x 50 ml, n. cat. 939016) non è incluso nel QIASymphony DSP Circulating DNA Kit e deve essere ordinato separatamente.

Si consiglia di centrifugare i campioni di urina subito dopo il prelievo a bassa velocità (1.900 x g) per 10 minuti a temperatura ambiente (15–25 °C) per eliminare le cellule. I campioni di urina non stabilizzata richiedono un pretrattamento.

**Importante:** portare i campioni a temperatura ambiente (15–25 °C) prima di iniziare il pretrattamento.

**Importante:** la centrifugazione e il pretrattamento dei campioni di urina devono essere eseguiti entro 4 ore dal prelievo.

- Miscelare 2.500 µl di urina (circDNA\_2000\_DSP) o 4.500 µl di urina (circDNA\_4000\_DSP) rispettivamente con 250 µl o 450 µl di Buffer ATL.
- Incubare i campioni a temperatura ambiente (15–25 °C) per 1 ora.
- Centrifugare i campioni a 1.900 x g per 10 minuti a temperatura ambiente (15–25 °C).

---

Se dopo la centrifugazione nel supernatante sono visibili dei precipitati, riscaldare i campioni a 25 °C in un bagno d'acqua per dissolverli.

- Trasferire i supernatanti in una provetta per campioni secondaria, quindi caricare la provetta sul portacampioni (vedere l'elenco della plastiche da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

**Importante:** nell'urina non stabilizzata, la stabilità e l'integrità del DNA libero circolante sono limitate. Si consiglia di caricare al massimo un lotto di 24 campioni per ogni processo eseguito su QIAAsymphony per ridurre al minimo il tempo a bordo dei campioni di urina.

### Sostanze interferenti

I campioni di plasma con concentrazioni elevate di gamma-globulina (>30 g/l) potrebbero causare una riduzione del recupero di DNA libero circolante.

## Cronologia delle revisioni

<b>Data</b>	<b>Modifiche</b>
Versione 2, R1 dicembre 2020	Versione iniziale.

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per le clausole di esclusione della responsabilità per i singoli prodotti, consultare il manuale del kit QIAGEN specifico o il manuale utente. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili sul sito [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) oppure possono essere richiesti al servizio di assistenza QIAGEN o al distributore locale.

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (Gruppo QIAGEN). I marchi registrati, i marchi di fabbrica ecc. utilizzati in questo documento, anche se non indicati in modo specifico come tali, non devono essere considerati non protetti dalla legge.

12/2020 HB-2309-S02-001 © 2020 QIAGEN, tutti i diritti riservati.



---

Ordini [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Assistenza tecnica [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Sito web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)