

QIAsymphony[®] DSP Virus/Pathogen Kit 使用説明書（プロトコールシート）

Complex800_V6_DSP プロトコール

バージョン 2



体外診断用医薬品

QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit での使用



937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ドイツ

R1

プロトコールシートは電子的に利用可能であり、www.qiagen.com の製品ページのリソースタブでご覧いただけます。

全般情報

QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit は、体外診断用です。

キット	QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
サンプル材料	呼吸器および泌尿生殖器のサンプル
プロトコル名	Complex800_V6_DSP
デフォルトのアッセイコントロールセット	ACS_Complex800_V6_DSP_default_IC
編集可能	溶出液量：60、85、110 µl
必要なソフトウェアバージョン	バージョン 4.0 以降
IVD の使用に必要なソフトウェア構成	デフォルトプロファイル 1

「Sample (サンプル)」ボックス

サンプルのタイプ	尿、泌尿生殖器スワブ (PreservCyt [®] 、UTM、eNAT™などの輸送培地中) および呼吸器スワブ (乾燥スワブまたは UTM、eNAT などの輸送培地中)
サンプル量	使用するサンプルチューブのタイプによって異なります。詳細は、 www.qiagen.com の製品ページのリソースタブにある実験器具リストをご覧ください
処理したサンプル量	詳細は、 www.qiagen.com の製品ページのリソースタブにある実験器具リストをご覧ください
一次サンプルチューブ	詳細は、 www.qiagen.com の製品ページのリソースタブにある実験器具リストをご覧ください
二次サンプルチューブ	使用するサンプルチューブのタイプによって異なります。詳細は、 www.qiagen.com の製品ページのリソースタブにある実験器具リストをご覧ください
インサート	使用するサンプルチューブのタイプによって異なります。詳細は、 www.qiagen.com の製品ページのリソースタブにある実験器具リストをご覧ください
その他	必要な担体 RNA-Buffer AVE ミックス。内部コントロールの使用は任意です

「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 (RC)
位置 B1	Buffer ATL (ATL)
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
チップラックホルダー1~17	使い捨てフィルターチップ、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が格納されたユニットボックス
ユニットボックスホルダー1~4	8-Rod Covers が格納されたユニットボックス

「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	廃液ボトル

「Eluate（溶出液）」ボックス

溶出ラック（冷却ポジションであるスロット1の使用を推奨）	詳細は、 www.qiagen.com の製品ページのリソースタブにある実験器具リストをご覧ください。
------------------------------	---

必要なプラスチック製品

プラスチック製品	1 バッチ 24 サンプル*	2 バッチ 48 サンプル*	3 バッチ 72 サンプル*	4 バッチ 96 サンプル*
Disposable filter-tips, 200 µl [†] *	34	60	86	112
Disposable filter-tips, 1500 µl [†] *	123	205	295	385
Sample prep cartridges [§]	18	36	54	72
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* バッチあたり複数の内部コントロールを使用し、複数回の在庫スキャンを実施するには、追加の使い捨てのフィルターチップが必要です。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回のランに必要な使い捨てのフィルターチップの数が少なくても構いません。

[†] 1つのチップラックに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RC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。

注釈：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。

選択溶出量

選択溶出量 (µl) *	初回溶出量 (µl) †
60	90
85	115
110	140

* タッチスクリーンで選択した溶出量。これは、最終溶出チューブ内の溶出液の最小アクセス可能量です。

[†] 選択量と実際の溶出量を同量にするのに必要な溶出液の初回量。

内部コントロール-担体 RNA (CARRIER)-Buffer AVE (AVE)混合液の調製

選択溶出量 (μl)	ストック担体 RNA (CARRIER)量 (μl)	内部コントロール量 (μl)	Buffer AVE (AVE)量 (μl)	サンプル 1 つあたりの最終量 (μl)
60	3	9	108	120
85	3	11.5	105.5	120
110	3	14	103	120

* 内部コントロール量の計算は、初回溶出量に基づいています。追加の空隙量は、使用するサンプルチューブのタイプによって異なります。詳細は、www.qiagen.com の製品ページのリソースタブにある実験器具リストを参照してください。

注釈：表に示す値は、溶出液 1 μl あたり内部コントロール 0.1 μl を必要とするダウンストリームアッセイ用の内部コントロール-担体 RNA (CARRIER) 混合液調製用です。

内部コントロール-担体 RNA (CARRIER) -Buffer AVE (AVE)混合液を含むチューブを、チューブキャリアに配置します。内部コントロール-担体 RNA (CARRIER)-Buffer AVE (AVE)混合液を含むチューブキャリアは、サンプルボックスのスロット A に配置する必要があります。

以下の表に記載しているように、内部コントロールの希釈には、処理するサンプルの数に応じて、2 ml チューブ (Sarstedt®、カタログ番号 72.693 または 72.694) または 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene, round-bottom tubes (BD™、カタログ番号 352051) の使用をお勧めします。この量は 2 本以上のチューブに分割できます。

内部コントロール混合液量を計算

チューブタイプ	QIAsymphony タッチスクリーン上の名称	チューブ 1 本あたりの内部コントロール-担体 RNA (CARRIER) -Buffer AVE (AVE)混合液量の計算
Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, skirted (Sarstedt, カタログ番号 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, non-skirted (Sarstedt, カタログ番号 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Tube 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (BD [§] , カタログ番号 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* この式を使用して、必要な内部コントロール混合液の量を計算します (n = サンプル数、 $120 \mu\text{l}$ = 内部コントロール-担体 RNA (CARRIER) -Buffer AVE (AVE)混合液の量、 $360 \mu\text{l}$ = チューブ 1 本あたりに必要な空隙量)。たとえば、12 サンプル ($n = 12$) の場合： $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$ チューブに 1.9 ml を超える量を充填しないでください (チューブ 1 本あたり最大 12 サンプル)。12 を超えるサンプルを処理する場合は、追加のチューブを使用して、チューブごとに空隙量が追加されるようにします。

† この式を使用して、必要な内部コントロール-担体 RNA (CARRIER) -Buffer AVE (AVE)混合液の量を計算します (n = サンプル数、 $120 \mu\text{l}$ = 内部コントロール-担体 RNA (CARRIER) -Buffer AVE (AVE)混合液の量、 $600 \mu\text{l}$ = チューブ 1 本あたりに必要な空隙量)。たとえば、96 サンプル ($n = 96$) の場合： $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$ 。

§ BD はこのチューブの以前の供給業者、Corning Inc.は現在の新しい供給業者です。

必要なインサートについては、www.qiagen.com の製品ページのリソースタブにある実験器具リストをご覧ください。

FIX 実験器具を使用

サンプル移動に液面レベル検出 (Liquid-Level Detection、LLD) を使用すると、一次および二次チューブを使用できます。ただし、これには、それぞれのチューブに特定のデッドボリュームが必要です。デッドボリュームを最小限に抑えるために、液面レベルを検出せず二次チューブを使用する必要があります。特定の FIX 実験器具 (SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt など) が利用可能であり、QIAsymphony SP のタッチスクリーンでも選択できます。このチューブ/ラックタイプには、吸引に制限があります。サンプルは、移動するサンプルの量によって定義されるチューブ内の特定の高さで吸引されます。したがって、実験器具リストに記載の量を使用することが不可欠です。実験器具リストは、www.qiagen.com の製品ページのリソースタブからダウンロードできます。

液面レベル検出の有無にかかわらず使用できるサンプルチューブと必要なサンプル量は、www.qiagen.com の製品ページのリソースタブにある実験器具リストにも記載されています。サンプル調製中にエラーが発生する可能性があるため、必要な量より多いまたは少ない量を使用しないでください。

液面レベル検出用のチューブと液面レベル検出用ではないチューブは、1回のランあたり1バッチ以内で処理できます。

サンプル材料の調製

薬品を取り扱う際には、適切な白衣、使い捨て手袋、保護メガネを必ず着用してください。詳細は、製品の供給元が提供する適切な安全データシート (Safety Data Sheet, SDS) を参照してください。

サンプル中またはサンプル上に泡が発生しないようにしてください。出発物質によっては、サンプル前処理が必要な場合があります。ランを開始する前に、サンプルの温度を室温 (15~25°C) にする必要があります。

注釈：サンプル安定性はさまざまな要因に大きく依存し、特定のダウンストリームアプリケーションに関連しています。これは、典型的なダウンストリームアプリケーションと組み合わせて QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit 用に確立されています。ユーザーは責任を持って、ラボで使用する特定のダウンストリームアプリケーションの使用説明書を参照し、ワークフロー全体を検証して適切な保管条件を確立しなければなりません。

一般的な採取、輸送、保管に関する推奨事項については、承認済みの CLSI ガイドライン MM13-A 「分子的方法のための検体の採取、輸送、調製、保管」を参照してください。さらに、サンプル調製、保管、輸送、および取り扱い全般では、選択したサンプル採取デバイス/キットに関する製造元の指示に従わなければなりません。

尿

尿は 2~8°C で最大 6 時間保管できます。それより長く保管する場合は、-20°C または-80°C で凍結することをお勧めします。尿はさらに前処理することなく、処理できます。サンプルを 2 ml の Sarstedt チューブ（カタログ番号 72.693 または 72.694）に移し、チューブキャリアに配置します。あるいは、一次チューブを使用することもできます。必要な最小開始容量は、使用する一次チューブによって異なる場合があります。各プロトコールに必要な最小開始容量を含む、適合する一次および二次チューブフォーマットは、www.qiagen.com の製品ページのリソースタブにある実験器具リストに示されています。このシステムは、保存料を含まない純粋な尿サンプル用に最適化されています。細菌性病原体に対する感度を高めるために、サンプルを遠心分離できます。上清を廃棄し、ペレットを少なくとも 800 µl の Buffer ATL (ATL)（カタログ番号 939016）に再懸濁できます。サンプルを 2 ml Sarstedt チューブ（カタログ番号 72.693 または 72.694）に移します。サンプルをチューブキャリアに配置し、Complex800_V6_DSP プロトコールと必要な FIX 実験器具を使用してサンプルを処理します。

グラム陽性菌からゲノム DNA を分離

酵素前処理によって、一部のグラム陽性菌の DNA 精製を改善してから、サンプルを QIAsymphony SP に移し、Complex800_V4_DSP プロトコールを開始できます。

1. 5000 x g で 10 分間遠心分離して細菌をペレット化します。
2. 細菌ペレットを 900 µl の適切な酵素溶液（20 mM Tris・HCl、pH 8.0、2 mM EDTA、1.2% Triton X-100 中に 20 mg/ml リゾチームまたは 200 µg/ml リソスタフィン）に懸濁します。
3. 37°C で少なくとも 30 分間インキュベートします。
4. チューブを短時間遠心分離し、蓋の内側から水滴を取り除きます。
5. サンプルを 2 ml の Sarstedt チューブ（カタログ番号 72.693 または 72.694）に移し、サンプルをチューブキャリアに入れ、必要な FIX 実験器具を使用して Complex800_V6_DSP プロトコールを続行します。

粘性または粘液のサンプル

一部のサンプルは粘性があり、ピペッティングを可能にするために液化が必要な場合があります。低粘度サンプルに、追加の調製は不要です。中粘度から高粘度のサンプルは、次のように調製する必要があります：

1. サンプルを 0.3% (w/v) ジチオスレイトール (DTT) で 1:1 に希釈します。
注釈：0.3% (w/v) DTT 溶液は事前に作成し、-20°C にて適切なアリコートで保存できます。使用後は融解したアリコートを廃棄してください。
2. サンプルの粘度がピペッティングに適したものになるまで、37°C でインキュベートします。
3. 少なくともサンプル 900 µl を 2 ml Sarstedt チューブ（カタログ番号 72.693 または 72.694）に移します。Complex800_V6_DSP プロトコールを使用し、サンプルを処理します。

乾燥した体液と分泌物のスワブ

1. 乾燥したスワブの先端を 1150 µl の Buffer ATL (ATL) (カタログ番号 939016) に浸し、継続的に混合しながら 56°C で 15 分間インキュベートします。混合が不可能な場合は、インキュベーションの前後に少なくとも 10 秒間ボルテックスします。
2. スワブを取り出し、スワブをチューブの内側に押し付けて液体をすべて絞り出します。
3. 少なくともサンプル 900 µl を 2 ml Sarstedt チューブ (カタログ番号 72.693 または 72.694) に移します。Complex800_V6_DSP プロトコールでサンプルを処理します。

注釈：このプロトコールは、コットンまたはポリエチレンスワブ用に最適化されています。他のスワブを使用する場合は、Buffer ATL (ATL) の容量を調整して、サンプル材料として少なくとも 900 µl が使用できるようにする必要があります。

呼吸器または泌尿生殖器のスワブ

泌尿生殖器スワブ (PreservCyt、UTM、eNAT などの輸送培地中) および呼吸器スワブ (乾燥スワブまたは UTM、eNAT などの輸送培地中) は、2~8°C で最大 6 時間保存できます。これより長期間にわたり保存する場合は、-20°C または -80°C で凍結することをお勧めします。

呼吸器または泌尿生殖器のスワブ用の保存培地は、前処理なしで使用できます。スワブを取り出していない場合は、スワブをチューブの側面に押し付けて液体を絞り出します。検体中の余分な粘液は、この時点で、スワブに集めて取り除く必要があります。次に、粘液とスワブから残留液体をすべて、スワブをチューブの側面に押し付けて絞り出す必要があります。最後に、スワブと粘液を取り除き、廃棄する必要があります。サンプルが粘性の場合は、サンプルを QIASymphony SP に移す前に、液化ステップ (「粘性または粘液のサンプル」セクションを参照) を実行します。十分な出発物質がない場合は、Buffer ATL (ATL) を輸送培地にピペットで移して必要な最小開始容量を調整し、チューブ内でサンプルを 15~30 秒間ボルテックスします (輸送培地にスワブが含まれている場合は、スワブを取り出す前にこの手順を実行します)。サンプルを 2 ml の Sarstedt チューブ (カタログ番号 72.693 または 72.694) に移し、サンプルをチューブキャリアに配置しますあるいは、一次チューブを使用することもできます。必要な最小開始容量は、使用する一次チューブによって異なる場合があります。各プロトコールに必要な最小開始容量を含む、適合する一次および二次チューブは、www.qiagen.com の製品ページのリソースタブにある実験器具リストに示されています。

制限と妨害物質

潜在的妨害物質の有意な悪影響は観察されませんでした (詳細については、www.qiagen.com の製品ページのリソースタブにある該当する性能特性を参照してください)。

注釈：抽出した核酸の品質評価用の典型的なダウンストリームアプリケーションを使用して検査しました。ただし、ダウンストリームアプリケーションが異なれば、純度に関する要件も異なる可能性があるため (すなわち、潜在的妨害物質が存在しない)、QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit が関与するワークフロー用ダウンストリームアプリケーション開発の一環として、関連物質の識別とテストも確立する必要があります。

溶出液の保管

注釈：溶出液の安定性はさまざまな要因に大きく依存し、特定のダウンストリームアプリケーションに関連しています。これは、典型的なダウンストリームアプリケーションと組み合わせて QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit 用に確立されています。ユーザーは責任を持って、ラボで使用する特定のダウンストリームアプリケーションの使用説明書を参照し、ワークフロー全体を検証して適切な保管条件を確立しなければなりません。

24 時間までの短期保存には、精製した核酸を 2~8°C で保存することをお勧めします。24 時間を超える長期保存には、-20°C での保存をお勧めします。

図記号

この文書には、次の図記号が使用されています。使用説明書またはパッケージとラベルに使用されている図記号の完全なリストについては、ハンドブックを参照してください。

図記号	図記号の定義
	この製品は、体外診断用医療機器に関する欧州規制 2017/746 の要件を満たしています。
	体外診断用医療機器
	カタログ番号
Rn	R は使用説明書の改訂を示し、n は改訂番号を示す。
	製造者

改訂履歴

改訂	説明
R1、2022年6月	バージョン 2、改訂 1 <ul style="list-style-type: none">IVDR に準拠するためにバージョン 2 に更新サンプル材料の調製セクションを拡大制限と妨害物質セクションを追加溶出液の保管セクションを追加図記号セクションを追加

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 Kit 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®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™ (Becton Dickinson and Company); eNAT™ (Copan Italia S.P.A.); PreservCyt® (Hologic, Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). 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。
06/2022 HB-3028-S05-001 © 2022 QIAGEN、無断複写・転載を禁じます。