

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

Cellfree200_V7_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 Mini Kit での使用



937036



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 Mini Kit
サンプル材料	血漿、血清、CSF
プロトコール名	Cellfree200_V7_DSP
デフォルトのアッセイコントロールセット	ACS_Cellfree200_V7_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	血漿、血清、CSF
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	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
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

n/a = 該当なし。

「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 [†]	30	54	78	102
Disposable filter-tips, 1500 µl [†]	101	182	271	354
Sample prep cartridges [‡]	21	42	63	84
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済みます。

[†] 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	2.5	9	108.5	120
85	2.5	11.5	106	120
110	2.5	14	103.5	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 ⁵ , 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 μl = 内部コントロール-担体 RNA (CARRIER) -Buffer AVE (AVE)混合液の量、360 μl = 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 μl = 内部コントロール-担体 RNA (CARRIER) -Buffer AVE (AVE)混合液の量、600 μl = 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： $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$ 。

⁵ 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。

血漿、血清、CSF サンプル

精製手順は、血漿、血清、CSF サンプルでの使用に最適化されています。血漿の調製には、抗凝固剤として EDTA やクエン酸を使用して処理した血液サンプルを使用できます。2 回以上凍結と融解を行っていない限り、新鮮なサンプルでも凍結サンプルでも使用可能です。採取と遠心分離の後、血漿と血清は 2~8°C で最大 6 時間保存できます。

これより長期間保存する場合は、-20°C または -80°C でアリコート凍結することをお勧めします。凍結した血漿や血清は、2 回以上融解してはなりません。凍結融解を繰り返すと、タンパク質の変性と沈殿が起こり、ウイルス力価が低下する可能性があるため、ウイルス核酸の収量が減少します。サンプル中にクリオプレシペートが見られる場合は、6800 x g で 3 分間遠心分離し、ペレットを乱さないよう上清を新しいチューブに移し、ただちに精製手順を開始します。低 g 力で遠心分離しても、ウイルス力価は低下しません。

制限と妨害物質

血清凝固活性剤で処理した血液サンプルは、ウイルス核酸の収量が減少する可能性があります。Z Serum Clot Activator を含む Bio-One® Vacuette® 血液採取チューブは使用しないでください。

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文書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。

注釈：ISO 20186-2:2019(E) によると、血液採取チューブからのヘパリンは、分離した核酸の純度に影響を与える可能性があり、溶出液にキャリアオーバーし、一部のダウンストリームアプリケーションで阻害を引き起こす可能性があります。そのため、血漿調製の抗凝固剤として EDTA やクエン酸で処理した血液サンプルの使用をお勧めします。

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); Bio-One®, Vacuette® (Greiner Bio-One GmbH); 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-S07-001 © 2022 QIAGEN、無断複写・転載を禁じます。