

Helmikuu 2017

# QIAsymphony<sup>®</sup> SP –protokollatie- tolehtinen

circDNA\_2000\_DSP\_V1 ja  
circDNA\_4000\_DSP\_V1

Tämä asiakirja on QIAsymphony circDNA\_2000\_DSP\_V1:n ja circDNA\_4000\_DSP\_V1:n  
protokollatietolehtinen, versio 1, R1.

## Yleistä tietoa

In vitro -diagnostiikkaan.

Tämä protokolla on tarkoitettu ihmisen verenkierrossa olevan soluttoman DNA:n puhdistamiseen tuoreesta tai jäädytetystä ihmisen plasmasta ja virtsasta käyttäen QIASymphony SP -laitetta ja QIASymphony DSP circulating DNA Kit -tarvikesarjaa.

<b>Sarja</b>	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (tuotenro 937556)
<b>Näytemateriaali</b>	Ihmisen plasma: EDTA- tai sitraattiantikoaguloitu tai stabiloitu cccfDNA Ihmisen virtsa: stabiloimaton tai stabiloitu
<b>Protokollan nimi</b>	circDNA_2000_DSP_V1 circDNA_4000_DSP_V1
<b>Oletusarvoinen analyysin kontrollisarja</b>	ACS_circDNA_2000_DSP_V1 ACS_circDNA_4000_DSP_V1
<b>Eluaatin määrä</b>	60 µl
<b>Tarvittava ohjelmistoversio</b>	Versio 4.0.3 tai uudempi

## ”Sample” (Näyte) -lokero

<b>Näytetyyppi</b>	Ihmisen plasma (katso ”Näytemateriaalin valmisteleminen”) ja ihmisen virtsa (stabiloimaton tai stabiloitu)
<b>Näytemäärä</b>	Vaihtelee käytettävän näyteputken mukaan. Tarkempia tietoja on laboratoriotarvikeluettelossa, joka on verkkosivustossa <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> tuotesivun resurssivälilehdessä.
<b>Ensisijaiset näyteputket</b>	Ei mitään
<b>Toissijaiset näyteputket</b>	Tarkempia tietoja on laboratoriotarvikeluettelossa, joka on verkkosivustossa <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> tuotesivun resurssivälilehdessä.
<b>Pakkausselosteet</b>	Ei mitään
<b>Muu</b>	Proteinaasi K pitää lisätä paikkaan A (paikka 1 ja/tai 2)

ei sovellettavissa = ei sovellettavissa

## "Sample" -lokeron proteinaasi K:n valmistelu

QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit -tarvikesarja sisältää käyttövalmista proteinaasi K -liuosta, jota voidaan säilyttää huoneenlämmössä.

**Huomautus:** Proteinaasi K:ta sisältävät putket asetetaan putkialustalle. Proteinaasi K:ta sisältävät putket pitää asettaa "Sample" -lokeron paikan A paikkoihin 1 ja 2. Vaadittu putkityyppi esitetään laboratoriotarvikeluettelossa, joka on verkkosivustossa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) tuotesivun resurssivälilehdessä.

Näytteiden lukumäärä*	circDNA_2000_DSP	circDNA_4000_DSP
8	1 980 µl	2 860 µl
24	3 740 µl	6 380 µl
48	6 380 µl	11,660 ml <sup>†</sup>
96	11,660 ml	22,220 ml <sup>†</sup>

\* Jokaisessa näytteessä pitää olla 110 µl circDNA\_2000\_DSP:n ja 220 µl circDNA\_4000\_DSP:n tapauksessa, ja lisäksi tarvitaan 1 100 µl:n [(n x 110 tai 220 µl) + 1 100 µl] tyhjä tilavuus.

<sup>†</sup> circDNA\_4000\_DSP: Jos näytteitä käsitellään yli 48 kappaletta, käytä toista putkea. Suurin täyttöttilavuus putkea kohti on 11,660 µl. Toiseen putkeen tarvitaan 1 100 µl:n ylimääräinen tyhjä tilavuus.

## "Reagents and Consumables" (Reagenssi- ja tarvike) -lokero

<b>Asento A1 ja/tai A2</b>	Reagenssisylinteriampulli (RC)
<b>Asento B1</b>	ei sovellettavissa
<b>Kärkitelineen pidike 1-18</b>	Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 µl tai 1 500 µl <sup>††</sup>
<b>Yksikkölaatikon pidike 1-4</b>	Yksikkölaatikot sisältävät näytteen valmistelusylinteriampullit tai 8-Rod-sauvan suojukset

ei sovellettavissa = ei sovellettavissa

## "Waste" (Jäte) -lokero

<b>Yksikkölaatikon pidike 1-4</b>	Tyhjät yksikkölaatikot
<b>Jätepussin pidike</b>	Jätepussi
<b>Nestejätepullon pidike</b>	Tyhjä nestejätepullo

## "Eluate" (Eluaatti) -lokero

**Eluaattilinen (on suositeltavaa käyttää paikkaa 1, jäähdytyspaikkaa)**

Tarkempia tietoja on laboratoriotarvikeluettelossa, joka on verkkosivustossa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) tuotesivun resurssivälilehdessä.

## Tarvittavat muovitarvikkeet

### Protokolla circDNA\_2000\_DSP

Muovitarvikkeet	Yksi erä, 24 näytettä*	Kaksi erää, 48 näytettä*	Neljä erää, 96 näytettä*
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 µl <sup>†‡</sup>	24	48	96
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 1 500 µl <sup>†‡</sup>	64	120	232
Näytteenvalmistelun sylinteriampullit <sup>§</sup>	15	30	60
8-Rod-sauvan suojukset <sup>¶</sup>	3	6	12

\* Jos erässä käytetään alle 24 näytettä, ajossa tarvitaan vähemmän kertakäyttöisiä suodatinkärkiä.

† Yhdessä suodatinkärkitelineessä on 32 suodatinkärkeä.

‡ Tarvittavien suodatinkärkien määrä käsittää suodatinkärjet yhteen tarvikkeiden skannaukseen yhtä reagenssisylinteriampullia kohti.

§ Yksikkölaatikkoa kohti on 28 näytteenvalmistelun sylinteriampullia.

¶ Yksikkölaatikkoa kohti on kaksitoista 8-Rod-sauvan suojusta.

### Protokolla circDNA\_4000\_DSP

Muovitarvikkeet	Yksi erä, 24 näytettä*	Kaksi erää, 48 näytettä*	Neljä erää, 96 näytettä*
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 µl <sup>†‡</sup>	24	48	96
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 1 500 µl <sup>†‡</sup>	104	200	392
Näytteenvalmistelun sylinteriampullit <sup>§</sup>	18	36	72
8-Rod-sauvan suojukset <sup>¶</sup>	3	6	12

\* Jos erässä käytetään alle 24 näytettä, ajossa tarvitaan vähemmän kertakäyttöisiä suodatinkärkiä.

† Yhdessä suodatinkärkitelineessä on 32 suodatinkärkeä.

‡ Tarvittavien suodatinkärkien määrä käsittää suodatinkärjet yhteen tarvikkeiden skannaukseen yhtä reagenssisylinteriampullia kohti.

§ Yksikkölaatikkoa kohti on 28 näytteenvalmistelun sylinteriampullia.

¶ Yksikkölaatikkoa kohti on kaksitoista 8-Rod-sauvan suojusta.

**Huomautus:** Mainittu suodatinkärkien määrä voi poiketa kosketusnäytössä näkyvästä luvusta asetuksista riippuen. Kärkiä on suositeltavaa käyttää mahdollisimman suurena määränä.

## Eluaatin määrä

Valittu eluaatin määrä	Alkuperäinen eluaatin määrä
60 µl	75 µl

Eluaatin määrä valitaan kosketusnäytöstä. Keskimääräinen saatavissa oleva eluaatin määrä on vähintään 60 µl. Yksittäisissä tapauksissa yksittäisten näytteiden lopullinen eluaatin määrä voi olla enintään 5 µl pienempi kuin valittu määrä (esim. 55 µl). On suositeltavaa tarkistaa todellinen eluaatin määrä käytettäessä automaattista analyysin määrittäjäjärjestelmää, joka ei varmista eluaatin määrää ennen siirtoa.

## Eluaattien säilytys

Suosittelimme eluointilevyn poistamista "Eluate" -lokerosta heti ajon päättymisen jälkeen. Eluointilevyt voidaan jättää QIASymphony SP -laitteeseen ajon päättymisen jälkeen yön ajaksi (enintään 16 tuntia ajoaika mukaan lukien; suositellut ympäristöolot:

18–26 °C ja 20–75 %:n suhteellinen ilmankosteus). Eluaattiin voi tiivistyä kosteutta tai niissä oleva neste voi haihtua, mikä vaihtelee lämpötilan ja kosteuden mukaan.

Näytteen valmistelun jälkeen eluaatteja voi säilyttää 2–8 °C:ssa enintään kuukauden ajan. Eluaatteja voidaan säilyttää pitkäaikaisesti –20 °C:ssa tai –80 °C:ssa. Jäädetyt eluaatit saa sulattaa enintään kolme kertaa.

## Näyttemateriaalin valmisteleminen

Kun käsittelet kemikaaleja, käytä aina asianmukaista suojavaatetusta, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoja on asianmukaisissa käyttöturvallisuustiedotteissa, jotka ovat saatavissa tuotteen toimittajalta.

### Tärkeitä huomioitavia seikkoja ennen aloittamista

- Estä vaahdon muodostuminen näytteisiin tai niiden päälle.
- Näytteet pitää tasapainottaa huoneenlämpöön (15–25 °C:seen) ennen ajon aloittamista.

## Ihmisen plasma

EDTA- tai sitraattiantikoagulantilla käsitellyjä verinäytteitä voi käyttää plasman valmisteluun. Myös stabiloitua ccfDNA:ta sisältävissä verinäyteputkissa valmistettua plasmaa voidaan käyttää. Plasma muodostetaan valmistajan määrittämällä tavalla.

Plasman erotus on suositeltavaa tehdä heti veren luovuttamisen jälkeen, kun antikoagulanttina käytetään EDTA:ta tai sitraattia.

Tietyissä jatkosovelluksissa voi olla tarpeen sulkea pois nukleiinihapot vesikkeleistä tai vähentää niiden määrää. Näissä tapauksissa suosittelemme suuren nopeuden sentrifugointivaiheen suorittamista 16 000 *g:n* kiihtyvyydellä 10 minuutin ajan huoneenlämmössä (15–25 °C) plasman keräämisen jälkeen.

Keruu ja sentrifugoinnin jälkeen plasmaa voi säilyttää huoneenlämmössä enintään 7 vuorokautta ja 2–8 °C:ssa enintään 14 vuorokauden ajan. Pidempiaikaista säilytystä varten alikvootit pitää jäädyttää –20 °C:seen tai –80 °C:seen. Jäädetytyn plasman saa sulattaa enintään kolme kertaa. Toistuva jäädytys ja sulatus aiheuttaa proteiinien denaturoitumisen ja sakkautumisen, mikä johtaa verenkierrassa olevien soluttomien nukleiinihappojen saannon mahdolliseen pienentymiseen. Jos näytteissä näkyy jäädytysakkaa, sentrifugoi näytteitä 6 800 *g:n* kiihtyvyydellä 3 minuuttia huoneenlämmössä (15–25 °C) ja siirrä supernatantit pellettejä rikkomatta toissijaiseen näyteputkeen (tarkempia tietoja on laboratoriotarvikeluettelossa, joka on verkkosivustossa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) tuotesivun resurssivälilehdessä). Aloita puhdistustoimenpide välittömästi.

## Ihmisen virtsa

Koska verenkierrassa oleva soluton DNA hajoaa nopeasti virtsan keräämisen jälkeen, suosittelemme vahvasti stabiloimaan virtsanäytteet välittömästi.

### **Ihmisen stabiloitu virtsa**

Stabiloitua virtsaa voi säilyttää huoneenlämmössä (15–25 °C) tai 2–8 °C:ssa enintään 7 vuorokauden ajan. Pidempiaikaista säilytystä varten alikvootit pitää jäädyttää –20 °C:seen tai –80 °C:seen.

Stabiloiduille virtsanäytteille ei tarvitse tehdä näytteen esikäsittelyä. Stabiloinnin jälkeen virtsanäytteitä on suositeltavaa sentrifugoida alhaisella nopeudella (1 900 *g:n* kiihtyvyydellä) 10 minuutin ajan huoneenlämmössä (15 - 25 °C) solujen poistamiseksi ennen vierenkierrassa olevan soluttoman DNA:n talteenottoa. Jos supernatanteissa näkyy sakkaa sentrifugoinnin jälkeen, lämmitä näytteet 25 °C:seen vesihauteella, jotta sakat liukenevat. Ennen kuin aloitat ajon, siirrä

stabiloidut virtsanäytteet toissijaiseen näyteputkeen ja aseta tämä putki näytealustalle (tarkempia tietoja on laboratoriotarvikeluettelossa, joka on verkkosivustossa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) tuotesivun resurssivälilehdessä).

### Ihmisen "stabiloimaton" virtsa

Ennen ATL-puskuria edellyttävän protokollan aloittamista on tarkistettava, onko ATL-puskuriin muodostunut sakkaa. Liuota tarvittaessa sakka kuumentamalla 70 °C:ssa samalla varovasti vesihauteella sekoittaen. Poista kuplat ATL-puskurin pinnasta.

**Huomautus:** ATL-puskuri (Buffer ATL, 4 x 50 ml, tuotenro 939016) ei ole osa QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -tarvikesarjaa, vaan se pitää tilata erikseen.

Virtsanäytteitä on suositeltavaa sentrifugoida heti niiden keruun jälkeen alhaisella nopeudella (1 900 g:n kiihtyvyydellä) 10 minuutin ajan huoneenlämmössä (15–25 °C) solujen poistamiseksi. Stabiloimattomille virtsanäytteille pitää tehdä näytteen esikäsittely.

**Tärkeää:** näytteet pitää tasapainottaa huoneenlämpöön (15–25 °C:seen) ennen esikäsittelyn aloittamista.

**Tärkeää:** sentrifugointi ja esikäsittely pitää tehdä 4 tunnin kuluessa virtsanäytteen ottamisesta.

- Sekoita 2 500 µl virtsaa (circDNA\_2000\_DSP) tai 4 500 µl virtsaa (circDNA\_4000\_DSP) 250 µl:aan tai vastaavasti 450 µl:aan ATL-puskuria.
- Inkuboi näytteitä huoneenlämmössä (15–25 °C:ssa) tunnin ajan.
- Sentrifugoi näytteitä 1 900 g:n kiihtyvyydellä 10 minuuttia huoneenlämmössä (15–25 °C:ssa). Jos supernatantissa näkyy sakkaa sentrifugoinnin jälkeen, lämmitä näytteet 25 °C:seen vesihauteella, jotta sakat liukenevat.
- Siirrä supernatantit toissijaiseen näyteputkeen ja aseta tämä putki näytealustalle (tarkempia tietoja on laboratoriotarvikeluettelossa, joka on verkkosivustossa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) tuotesivun resurssivälilehdessä).

**Tärkeää:** Verenkierrossa olevan soluttoman DNA:n stabiilius ja eheys ovat heikompia stabiloimattomasta virtsassa. Suosittelemme käyttämään enintään yhtä 24 näytteen erää yhtä QIASymphony-ajoa kohti, jotta virtsanäytteet ovat mahdollisimman vähän aikaa laitteessa.

### Häiritsevät aineet

Plasmanäytteet, joissa on suurena pitoisuutena gammaglobuliinia (> 30 g/l), voivat pienentääverenkierrossa olevan soluttoman DNA:n saantoa.

---

Katso päivitettyt lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet vastaavan QIAGEN-tarvikesarjan käsikirjasta tai käyttöoppaasta. QIAGEN-tarvikesarjojen käsikirjat ja käyttöoppaat ovat saatavissa verkko-osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), ja ne voi myös tilata QIAGENin tekniseltä asiakaspalvelulta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

Tavaramerkit: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Tässä asiakirjassa mainittuja rekisteröityjä nimiä, tavaramerkkejä jne. on pidettävä lain suojaamina, vaikkei niitä olisi erityisesti sellaisiksi merkitty.  
02/2017 HB-2309-S01-001  
© 2017 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.



