

Februar 2017

QIAsymphony[®] DSP Circulating DNA-kit

Ydelseskarakteristik

IVD

CE

MAT

937556

Indholdsfortegnelse

Ydelseskarakteristik	4
Grundydelse	4
Kørselspræcision	6
Samme ydelse for 2 ml- og 4 ml-protokoller	6
Størrelsesfordeling	7
Eluat-stabilitet	9

QIASymphony DSP cirkulerende DNA-system er et brugsklart in vitro-system til kvalitativ oprensning af humant cirkulerende cellefrit DNA (ccfDNA) fra humant plasma og urin.

QIASymphony DSP Circulating DNA-kittet er kun beregnet til brug sammen med QIASymphony SP-instrumentet.

QIASymphony DSP Circulating DNA-kittet indeholder reagenser til fuldautomatisk og samtidig oprensning af humant ccfDNA fra mange forskellige humane plasmatyper (EDTA eller citrat-antikoaguleret samt plasma fra ccfDNA-stabiliserede blodtagingsglas) og human urin (stabiliseret og ustabiliseret). Ydelsesegenskaberne for hvert blodprøvetagingsglas er ikke etableret og skal valideres af brugeren.

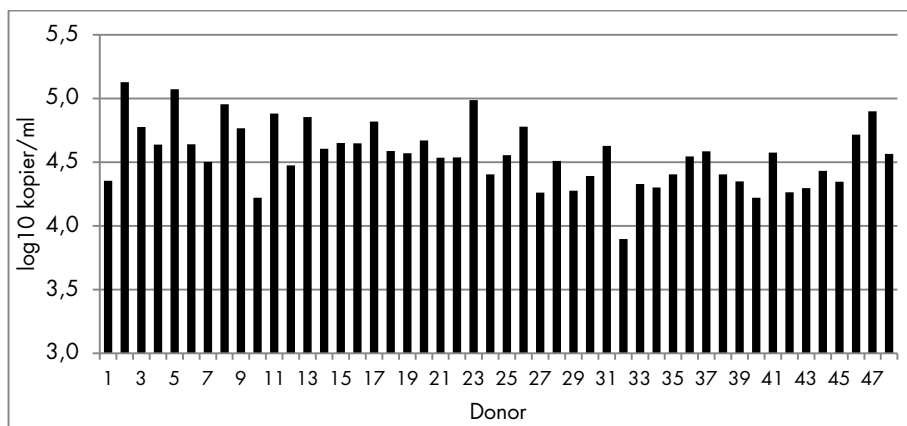
Det oprensede ccfDNA er kompatibelt med en bred række efterfølgende anvendelser. QIASymphony SP udfører alle trin i oprensningsproceduren. Der behandles op til 96 prøver i portioner af 24 i en enkelt kørsel. Urinprøver skal evt. forbehandles manuelt.

Ydelseskarakteristik

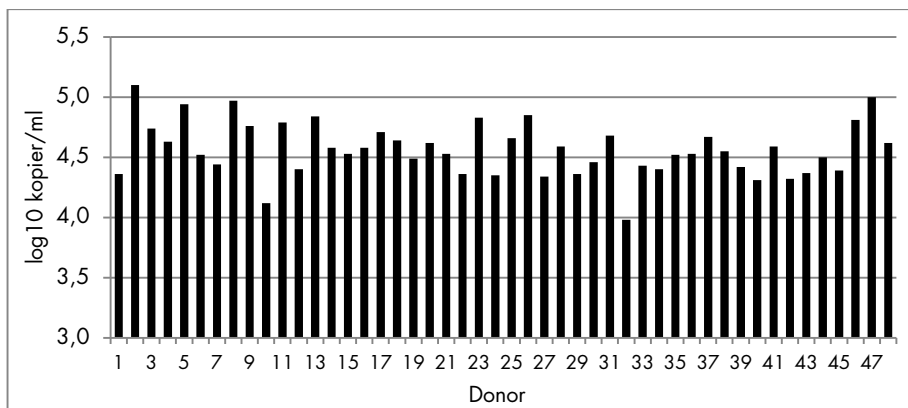
Grundydelse

QIASymphony DSP Circulating DNA-kittets grundydelse blev evalueret ved hjælp af 48 enkelte donorer for ccfDNA ekstraheret fra 4 ml stabiliseret plasma samt 4 ml EDTA-plasma og 4 ml stabiliseret urin. ccfDNA-udbyttet blev bestemt med en intern realtids PCR-analyse for 18S ribosomal RNA-kodningssekvensen.

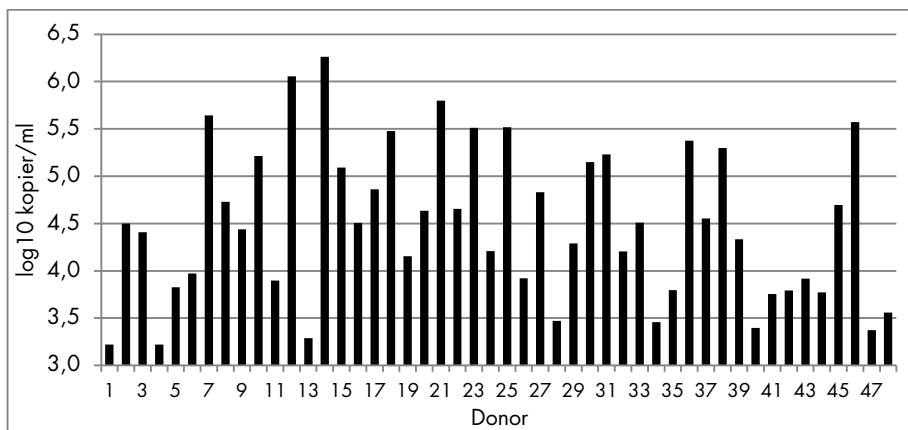
Forskellen i udbytter (log₁₀ kopier/ml) i figur 1 (4 ml stabiliseret plasma), figur 2 (4 ml EDTA-plasma) og figur 3 (4 ml stabiliseret urin) afspejler de stærke donorafhængige koncentrationer af ccfDNA, der typisk findes i samme volumen af det pågældende prøvemateriale. ccfDNA-udbyttet med stabiliseret plasma og EDTA-plasma udviser en høj korrelation for de 48 enkeltdonorer ved hjælp af plasma fra to forskellige typer BCT (figur 1 og figur 2).



Figur 1. ccfDNA-udbyttet fra plasma fra 48 enkeltdonorer: ccfDNA stabiliserede blodprøvetagningsglas. Bloddonation fra 48 enkeltdonorer blev fremstillet i ccfDNA-stabiliserede blodprøvetagningsglas. ccfDNA blev ekstraheret fra 4 ml plasma ved hjælp af QIASymphony DSP Circulating DNA-kittet, og ccfDNA-udbyttet blev kvantificeret ved hjælp af en intern realtids PCR-analyse for 18S kodningssekvensen. Resultater blev beregnet som target-kopier pr. ml plasmainput.



Figur 2. ccfDNA-udbyttet fra plasma fra 48 enkeltdonorer: EDTA-blodprøvetagningsglas. Bloddonation fra 48 enkeltdonorer blev fremstillet i EDTA-blodprøvetagningsglas. ccfDNA blev ekstraheret fra 4 ml plasma ved hjælp af QIASymphony DSP Circulating DNA-kittet, og ccfDNA-udbyttet blev kvantificeret ved hjælp af en intern realtids PCR-analyse for 18S kodningssekvensen. Resultater blev beregnet som target-kopier pr. ml plasmainput.



Figur 3. ccfDNA-udbyttet fra stabiliseret urin fra 48 enkeltdonorer. Urin fra 48 enkeltdonors blev stabiliseret straks efter indsamling. ccfDNA blev ekstraheret fra 4 ml urin ved hjælp af QIASymphony DSP Circulating DNA-kittet, og ccfDNA-udbyttet blev kvantificeret ved hjælp af en intern realtids PCR-analyse for 18S kodningssekvensen. Resultater blev beregnet som target-kopier pr. ml urinput.

Kørselspræcision

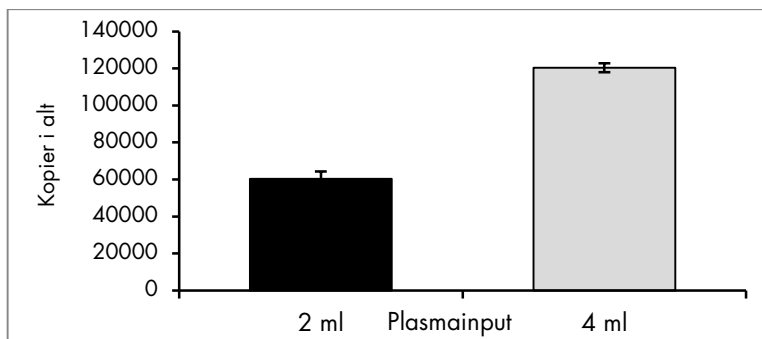
Variationskoefficienter (CV) blev bestemt til ekstraktion af humant ccfDNA fra EDTA-plasma. ccfDNA blev kvantificeret ved hjælp af en intern realtids PCR-analyse for 18S ribosomal kodningssekvensen i forbindelse med en præcisionsanalyse. Der blev i alt udført 10 QIASymphony-kørsler hver i 4 batches (8 replikater pr. batch). Præcisionsdataene vises i tabel 1.

Tabel 1. Analyse af præcisionskøn

Præcision	CV (%)
Inden for batch	11,67
Gentagelighed	13,14
Mellemstofpræcision	13,14
Samlet præcision	14,12

Samme ydelse for 2 ml- og 4 ml-protokoller

Samme ydelse for protokoller for 2 ml og 4 ml prøveinput blev evalueret for QIASymphony DSP Circulating DNA-kittet ved hjælp af endogent ccfDNA ekstraheret fra en human EDTA-plasmapulje. Der blev gennemført i alt 8 uafhængige QIASymphony-kørsler, hver kørsel i 4 batches med 8 replikater pr. batch. Det lineære område af QIASymphony DSP Circulating DNA-kitproceduren blev bestemt for 18S kodningssekvensen med en intern realtids PCR-analyse (figur 4). Forskelsforholdet for 2 ml- og 4 ml-protokollerne er vist i tabel 2. (Referenceprotokollen er 4 ml prøveinput).



Figur 4. Samme ydelse ved hjælp af 2 ml og 4 ml prøveinputprotokollen. ccfDNA-protokollens lineære område blev bestemt ved hjælp af 2 ml og 4 ml protokoller. ccfDNA-udbyttet blev kvantificeret ved hjælp af en intern realtids PCR-analyse for 18S kodningssekvensen. Resultater blev beregnet som kopier i alt pr. protokol.

Tabel 2. Forskel mellem 2 ml- og 4 ml-protokoller (N = 256)

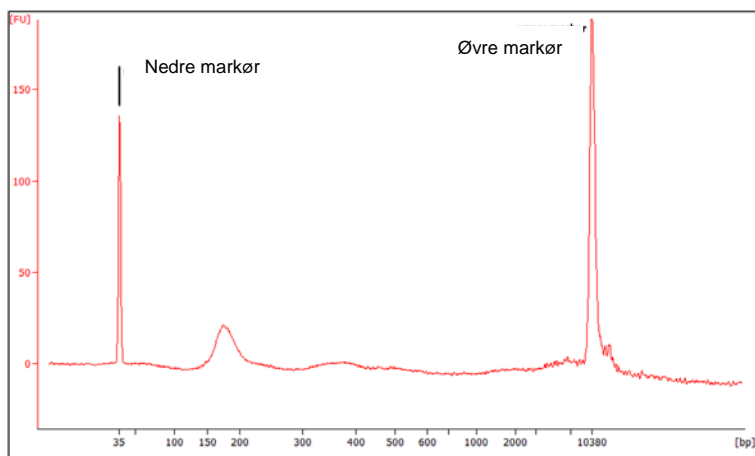
Parameter	Værdi
Skønnet forhold af geometrisk middelværdi i beregnede kopier/ml	1,01
Nedre 95 % konfidensgrænse	0,92
Øvre 95 % konfidensgrænse	1,11

Ydelsen for protokoller for 2 ml og 4 ml prøveinput er den samme, målt i beregnede kopier/ml.

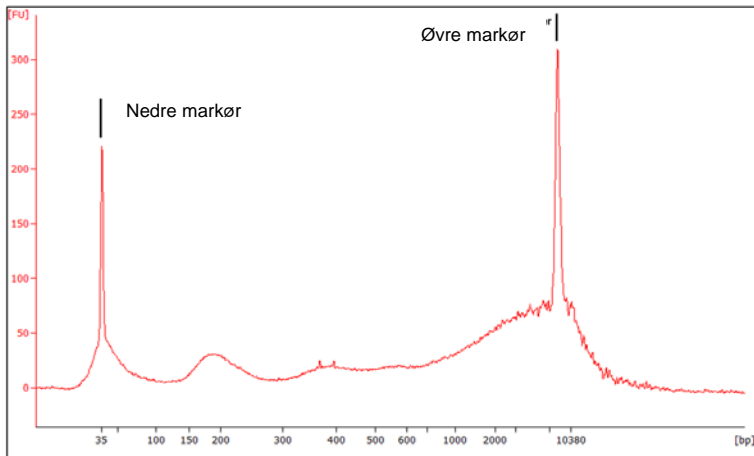
Størrelsesfordeling

For at vurdere prøveoutputtets størrelsesfordeling blev ccfDNA ekstraheret fra et prøveinput på 4 ml ved hjælp af QIASymphony DSP Circulating DNA-kittet, elueret i 75 µl, og derefter blev 1 µl eluat størrelsesanalyseret ved hjælp af Agilent 2100 Bioanalyzer og en Agilent High Sensitivity DNA Chip. Der blev udført i alt 5 uafhængige replikater. Der vises en repræsentativ DNA-profil for plasma i figur 5 og for stabiliseret urin i figur 6.

Elektroferogrammet for plasma i figur 5 viser den hyppigt observerede spidsværdi ved ~160 bp, der går fra 145 bp til 196 bp, hvilket er i længdeområdet for det histonbundne DNA i nukleosomet. Elektroferogrammet for urin i figur 6 viser, at den fortrinsvise spidsværdi ved ~160 bp er bredere, idet den går fra ~145 bp til 250 bp. Dertil kommer, at der for urin er endnu en spidsværdi, der går ~20 bp til 100 bp (ved den nedre markørs spidsværdi), hvilket er tegn på en ccfDNA-fraktion med en højere fragmenteringsgrad. Figur 6 viser desuden et højt antal lange DNA-fragmenter fra ~ 2 kb. Et højt antal af disse genome DNA-fragmenter, der ofte ses i urinprøver, skyldes højst sandsynligt frigivelse af genomt DNA fra celler, der er til stede i urinen.



Figur 5. Størrelsesfordeling af ccfDNA fra plasma (Bioanalyzer-profil). ccfDNA'et blev ekstraheret fra 4 ml EDTA-plasma ved hjælp af QIASymphony DSP Circulating DNA-kittet. 1 µl eluat blev udsat for en Agilent High Sensitivity DNA Chip-analyse. X-akse: baseparstørrelse(bp); Y-akse: fluorescensenheder (FE).

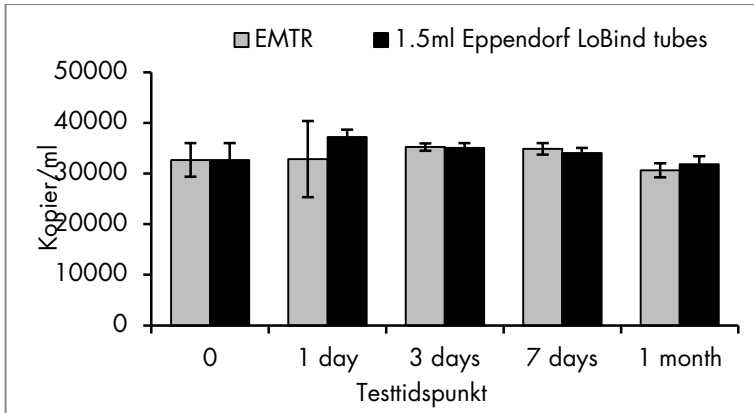


Figur 6. Størrelsesfordeling af ccfDNA fra urin (Bioanalyser-profil). ccfDNA'et blev ekstraheret fra 4 ml stabiliseret urin ved hjælp af QIASymphony DSP Circulating DNA-kittet. 1 µl eluat blev udsat for en Agilent High Sensitivity DNA Chip-analyse. X-akse: baseparstørrelse(bp); Y-akse: fluorescensenheder (FE).

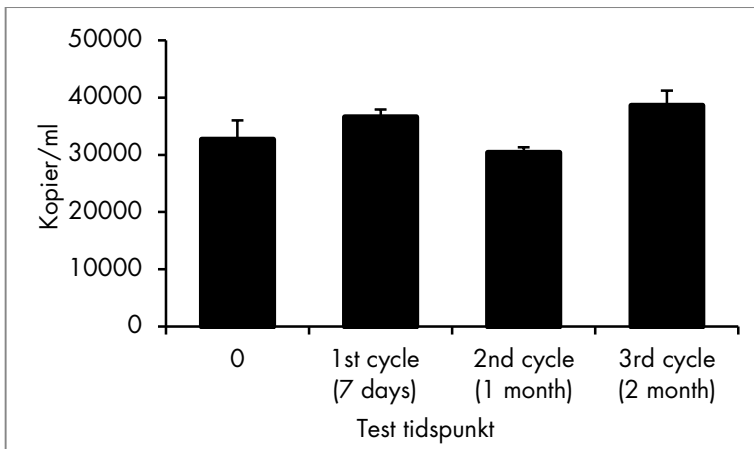
Eluat-stabilitet

Eluat-stabilitet for QIASymphony DSP Circulating DNA-kittet blev vurderet ved hjælp af ekstraheret ccfDNA fra en human EDTA-plasmapulje. Eluater blev opbevaret i 2 forskellige elueringsrackformater: QIAGEN EMTR (Elution Microtubes CL 96; kat.nr. 19588) og 1,5 ml Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock-glas. Eluater blev analyseret i replikater af 8. DNA's stabilitet i eluater blev bestemt med en intern realtids PCR-analyse for 18S ribosomal RNA-kodningssekvens.

Eluatstabiliteten ved 2-8 °C blev ikke berørt af opbevaringsperioden på op til én måned eller af opbevaringsformatet (figur 7). DNA's stabilitet i LoBind-glas blev ikke berørt af opbevaring ved -15 til -30 °C, der omfattede 3 fryse-tø-cykluser efter 7 dage, én måned og to måneder (figur 8).



Figur 7. ccfDNA's stabilitet i eluater, der opbevares ved 2-8 °C i 2 glasformater. ccfDNA'et blev ekstraheret fra EDTA-plasma ved hjælp af QIAasymphony DSP Circulating DNA-kittet og opbevaret ved 2-8 °C til forskellige testtidspunkter. ccfDNA-udbyttet blev kvantificeret ved hjælp af en intern realtids PCR-analyse for 18S kodningssekvensen. Resultater blev beregnet som target-kopier pr. ml plasmainput.



Figur 8. ccfDNA's stabilitet i eluater, der opbevares ved -15 til -30 °C, inkl. 3 fryse-tø-cykler. ccfDNA'et blev ekstraheret fra EDTA-plasma ved hjælp af QIAasymphony DSP Circulating DNA-kittet og opbevaret ved -15 til -30 °C i 1,5 ml Eppendorf LoBind-glas. ccfDNA-udbyttet blev bestemt ved 3 testtidspunkter ved hjælp af samme eluat ved 3 fryse-tø-cykler. ccfDNA-udbyttet blev kvantificeret ved hjælp af en intern realtids PCR-analyse for 18S kodningssekvensen. Resultater blev beregnet som target-kopier pr. ml plasmainput.

Vedrørende opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle QIAGEN-kithåndbog eller brugervejledning. QIAGEN-kithåndbøger og brugervejledninger kan findes på www.qiagen.com eller kan rekvireres fra QIAGENS tekniske serviceafdeling eller den lokale leverandør.

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Eppendorf® (Eppendorf AG).
Registrerede navne, varemærker osv. anvendt i dette dokument, selv når de ikke specifikt er markeret som sådan, skal ikke betragtes som værende juridisk ubeskyttede.

02/2017 HB-2309-D01-001
© 2017 QIAGEN. Alle rettigheder forbeholdes

