

Φεβρουάριος 2017

# Φύλλο πρωτοκόλλου QIAasympphony® SP

circDNA\_2000\_DSP\_V1 and  
circDNA\_4000\_DSP\_V1

Το παρόν έγγραφο είναι το φύλλο πρωτοκόλλου QIAasympphony circDNA\_2000\_DSP\_V1 και circDNA\_4000\_DSP\_V1, έκδοση 1, R1

## Γενικές πληροφορίες

Για διαγνωστική χρήση in vitro.

Αυτό το πρωτόκολλο προορίζεται για τον καθαρισμό ανθρώπινου κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων από φρέσκο ή κατεψυγμένο ανθρώπινο πλάσμα και ούρα με χρήση του QIASymphony SP και του kit QIASymphony DSP Circulating DNA.

<b>Κιτ</b>	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (αρ. καταλ. 937556)
<b>Υλικό δειγμάτων</b>	Ανθρώπινο πλάσμα: Αντιπηκτικό EDTA ή κιτρικό-, ή σταθεροποιημένο ccfDNA Ανθρώπινα ούρα: μη σταθεροποιημένα ή σταθεροποιημένα
<b>Ονομασία πρωτοκόλλου</b>	circDNA_2000_DSP_V1 circDNA_4000_DSP_V1
<b>Προκαθορισμένο σετ μαρτύρων προσδιορισμού</b>	ACS_circDNA_2000_DSP_V1 ACS_circDNA_4000_DSP_V1
<b>Όγκος έκλουσης</b>	60 µl
<b>Απαιτούμενη έκδοση λογισμικού</b>	Έκδοση 4.0.3 ή υψηλότερη

## Συρτάρι «Sample» (Δείγμα)

<b>Τύπος δείγματος</b>	Ανθρώπινο πλάσμα (βλ. «Προετοιμασία του δείγματος») και Ανθρώπινα ούρα (σταθεροποιημένα ή μη σταθεροποιημένα)
<b>Όγκος δείγματος</b>	Εξαρτάται από τον τύπο σωληναρίου δείγματος που χρησιμοποιείται Για περισσότερες πληροφορίες, βλ. τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που μπορεί να βρεθεί κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο <b>www.qiagen.com</b> .
<b>Πρώτα σωληνάρια δείγματος</b>	δεν εφαρμ.
<b>Δεύτερα σωληνάρια δείγματος</b>	Για περισσότερες πληροφορίες, βλ. τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που μπορεί να βρεθεί κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο <b>www.qiagen.com</b> .
<b>Ένθετα</b>	δεν εφαρμ.
<b>Άλλα</b>	Πρωτεϊνάση K πρέπει να προστεθεί στην υποδοχή A (θέση 1 ή/και 2)

δεν εφαρμ. = δεν εφαρμόζεται.

## Προετοιμασία της πρωτεϊνάσης K στο συρτάρι «Sample»

Το kit QIAasymphony DSP Circulating DNA περιέχει έτοιμο για χρήση διάλυμα πρωτεϊνάσης K, το οποίο μπορεί να φυλαχθεί σε θερμοκρασία δωματίου.

**Σημείωση:** Τα σωληνάρια που περιέχουν πρωτεϊνάση K τοποθετούνται σε φορέα σωληναρίων. Το(α) σωληνάριο(α) που περιέχει(ουν) πρωτεϊνάση K πρέπει να τοποθετηθεί(ούν) στις θέσεις 1 ή/και 2 στην υποδοχή A του συρταριού «Sample». Για τον απαιτούμενο τύπο σωληναρίου, βλ. τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που μπορεί να βρεθεί κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Αριθμός δειγμάτων*	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>

\* Για κάθε δείγμα, απαιτούνται 110 µl για το circDNA\_2000\_DSP ή 220 µl για το circDNA\_4000\_DSP, συν ένας πρόσθετος νεκρός όγκος 1.100 µl [(n x 110 ή 220 µl) + 1.100 µl].

<sup>†</sup> Για circDNA\_4000\_DSP: Εάν υποβάλλονται σε επεξεργασία περισσότερα από 48 δείγματα, χρησιμοποιήστε ένα δεύτερο σωληνάριο. Ο μέγιστος όγκος φόρτωσης ανά σωληνάριο είναι 11.660 µl. Για το δεύτερο σωληνάριο, απαιτείται πρόσθετος νεκρός όγκος 1.100 µl.

## Συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα)

Θέση A1 και/ή A2	Φύσιγγα αντιδραστηρίων
Θέση B1	δεν εφαρμ.
Στήριγμα θήκης ρυγμών 1-18	Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 µl ή 1.500 µl
Στήριγμα κουτιού μονάδων 1–4	Κουτιά μονάδων που περιέχουν φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων ή περιβλήματα 8 ράβδων

δεν εφαρμ. = δεν εφαρμόζεται.

## Συρτάρι «Waste» (Απόβλητα)

Στήριγμα κουτιού μονάδων 1–4	Κενά κουτιά μονάδων
Στήριγμα σακούλας αποβλήτων	Σακούλα αποβλήτων
Στήριγμα φιάλης υγρών αποβλήτων	Κενή φιάλη υγρών αποβλήτων

## Συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα)

**Θήκη έκλουσης (συνιστάται να χρησιμοποιήσετε την υποδοχή 1, θέση ψύξης)**

Για περισσότερες πληροφορίες, βλ. τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που μπορεί να βρεθεί κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Απαιτούμενα πλαστικά υλικά

### Πρωτόκολλο circDNA\_2000\_DSP

Πλαστικά υλικά	Μία παρτίδα, 24 δείγματα*	Δύο παρτίδες, 48 δείγματα*	Τέσσερις παρτίδες, 96 δείγματα*
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 μl <sup>†‡</sup>	24	48	96
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 1.500 μl <sup>†‡</sup>	64	120	232
Φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων <sup>§</sup>	15	30	60
Περιβλήματα 8 ράβδων <sup>¶</sup>	3	6	12

\* Η χρήση λιγότερων από 24 δειγμάτων ανά παρτίδα μειώνει τον αριθμό των αναλώσιμων ρυγχών φίλτρου που απαιτούνται ανά εκτέλεση.

<sup>†</sup> Κάθε θήκη ρυγχών φίλτρου περιέχει 32 ρύγχη φίλτρου.

<sup>‡</sup> Ο αριθμός των απαιτούμενων ρυγχών φίλτρου περιλαμβάνει ρύγχη φίλτρου για 1 σάρωση υλικού ανά φύσιγγα αντιδραστηρίων.

<sup>§</sup> Κάθε κουτί μονάδων περιέχει 28 φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων.

<sup>¶</sup> Κάθε κουτί μονάδων περιέχει δώδεκα περιβλήματα 8 ράβδων.

## Πρωτόκολλο circDNA\_4000\_DSP

Πλαστικά υλικά	Μία παρτίδα, 24 δείγματα*	Δύο παρτίδες, 48 δείγματα*	Τέσσερις παρτίδες, 96 δείγματα*
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 μl <sup>†‡</sup>	24	48	96
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 1.500 μl <sup>†‡</sup>	104	200	392
Φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων <sup>§</sup>	18	36	72
Περιβλήματα 8 ράβδων <sup>¶</sup>	3	6	12

\* Η χρήση λιγότερων από 24 δειγμάτων ανά παρτίδα μειώνει τον αριθμό των αναλώσιμων ρυγχών φίλτρου που απαιτούνται ανά εκτέλεση.

† Κάθε θήκη ρυγχών φίλτρου περιέχει 32 ρύγχη φίλτρου.

‡ Ο αριθμός των απαιτούμενων ρυγχών φίλτρου περιλαμβάνει ρύγχη φίλτρου για 1 σάρωση υλικού ανά φύσιγγα αντιδραστηρίων.

§ Κάθε κουτί μονάδων περιέχει 28 φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων.

¶ Κάθε κουτί μονάδων περιέχει δώδεκα περιβλήματα 8 ράβδων.

**Σημείωση:** Ανάλογα με τις εκάστοτε ρυθμίσεις, οι αριθμοί των ρυγχών φίλτρου ενδέχεται να διαφέρουν από εκείνους που προβάλλονται στην οθόνη αφής. Συνιστάται να φορτώνεται ο μέγιστος δυνατός αριθμός ρυγχών.

## Όγκος έκλουσης

Επιλεγμένος όγκος έκλουσης	Αρχικός όγκος έκλουσης
60 μl	75 μl

Ο όγκος έκλουσης επιλέγεται στην οθόνη αφής. Ο μέσος διαθέσιμος όγκος έκλουσης είναι  $\geq 60$  μl. Σε μεμονωμένες περιπτώσεις, ο τελικός όγκος έκλουσης για επιμέρους δείγματα μπορεί να είναι έως 5 μl μικρότερος από τον επιλεγμένο όγκο (π.χ. 55 μl). Συνιστάται να ελέγχεται ο πραγματικός όγκος εκλούσματος όταν χρησιμοποιείται αυτοματοποιημένο σύστημα ρύθμισης παραμέτρων προσδιορισμού που δεν επαληθεύει τον όγκο εκλούσματος πριν την μεταφορά.

## Φύλαξη των εκλουσμάτων

Συνιστάται να αφαιρείται η πλάκα εκλούσματος από το συρτάρι «Eluate» αμέσως μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης. Οι πλάκες έκλουσης μπορούν να παραμείνουν στο QIAsymphony SP μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης κατά τη διάρκεια της νύχτας (μέγιστο 16 ώρες συμπεριλαμβανομένου του χρόνου εκτέλεσης· συνιστώμενες περιβαλλοντικές συνθήκες:

18–26°C και 20–75% σχετική υγρασία). Ανάλογα με τη θερμοκρασία και την υγρασία, το εκλούσμα ενδέχεται να υποστεί συμπύκνωση ή εξάτμιση.

Μετά την προετοιμασία των δειγμάτων, τα εκλούσματα μπορούν να αποθηκευτούν σε θερμοκρασία 2–8°C για μέχρι 1 μήνα. Για μακροχρόνια αποθήκευση, τα εκλούσματα μπορούν να αποθηκευτούν σε θερμοκρασία –20°C ή σε θερμοκρασία –80°C. Τα κατεψυγμένα εκλούσματα δεν θα πρέπει να αποψυχθούν περισσότερες από 3 φορές.

## Προετοιμασία του δείγματος

Όταν εργάζεστε με χημικά θα πρέπει πάντοτε να φοράτε προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας (SDS), τα οποία είναι διαθέσιμα από τον προμηθευτή του προϊόντος.

### Σημαντικές υποδείξεις πριν από την έναρξη

- Αποφύγετε τη δημιουργία αφρού μέσα ή επάνω στα δείγματα.
- Τα δείγματα θα πρέπει να αποκτούν θερμοκρασία περιβάλλοντος (15–25°C) πριν από την έναρξη της εκτέλεσης.

### Ανθρώπινο πλάσμα

Δείγματα αίματος που υποβάλλονται σε επεξεργασία με EDTA ή κιτρικό ως αντιπηκτικό μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την προετοιμασία του πλάσματος. Πλάσμα που έχει προετοιμαστεί από σωληνάρια συλλογής αίματος με σταθεροποίηση του ccfDNA μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί. Το πλάσμα παράγεται όπως καθορίζεται από τον κατασκευαστή.

Συνιστάται να διενεργείται διαχωρισμός του πλάσματος αμέσως μετά την αιμοδοσία όταν χρησιμοποιείται EDTA ή κιτρικό ως αντιπηκτικό.

Για ορισμένες καθοδικές (downstream) εφαρμογές ενδέχεται να είναι απαραίτητο να αποκλειστούν ή να ελαχιστοποιηθούν τα νουκλεϊκά οξέα από τα κυστίδια. Για τέτοιες περιπτώσεις, συνιστάται να διενεργείται ένα βήμα φυγοκέντρησης υψηλής ταχύτητας στα 16.000 x g για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) μετά την αρχική παραγωγή του πλάσματος.

Μετά τη συλλογή και τη φυγοκέντρηση, το πλάσμα μπορεί να φυλαχθεί σε θερμοκρασία δωματίου για έως και 7 ημέρες και στους 2–8°C για έως και 14 ημέρες. Για μακροχρόνια αποθήκευση, συνιστάται η κατάψυξη υποπολλαπλασίων στους –20°C ή στους –80°C. Το κατεψυγμένο πλάσμα δεν θα πρέπει να αποψυχθεί περισσότερες από 3 φορές. Η επαναλαμβανόμενη κατάψυξη–

απόψυξη οδηγεί σε μετουσίωση και καθίζηση πρωτεϊνών, με δυνητικό αποτέλεσμα μειωμένες αποδόσεις κυκλοφορούντων νουκλεϊκών οξέων ελεύθερων κυττάρων. Εάν είναι ορατά κρυοζήματα στα δείγματα, φυγοκεντρήστε στα 6.800 x g για 3 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) και μεταφέρετε τα υπερκείμενα χωρίς να διαταραχθούν τα σφαιρίδια σε ένα δεύτερο σωληνάριο δείγματος (βλ. τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που μπορεί να βρεθεί κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)). Ξεκινήστε τη διαδικασία καθαρισμού αμέσως.

## Ανθρώπινα ούρα

Λόγω της ταχείας αποδόμησης του κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων μετά τη συλλογή ούρων, συνιστάται έντονα η σταθεροποίηση των δειγμάτων ούρων αμέσως.

### Ανθρώπινα ούρα σταθεροποιημένα

Τα σταθεροποιημένα ούρα μπορούν να αποθηκευτούν σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) ή στους 2–8°C για έως και 7 ημέρες. Για μακροχρόνια αποθήκευση, συνιστάται η κατάψυξη υποπολλαπλασίων στους –20°C ή στους –80°C.

Τα σταθεροποιημένα δείγματα ούρων δεν απαιτούν προκαταρκτική επεξεργασία του δείγματος. Μετά τη σταθεροποίηση, συνιστάται η φυγοκέντρωση των δειγμάτων ούρων σε χαμηλή ταχύτητα (1.900 x g) για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) για την αφαίρεση των κυττάρων πριν την εκχύλιση του κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων.- Εάν είναι ορατά ιζήματα στα υπερκείμενα μετά τη φυγοκέντρωση, θερμάνετε τα δείγματα στους 25°C σε λουτρό νερού για να διαλυθούν τα ιζήματα. Πριν την έναρξη μιας εκτέλεσης, μεταφέρετε τα σταθεροποιημένα δείγματα ούρων σε ένα δεύτερο σωληνάριο δείγματος και στη συνέχεια φορτώστε αυτό το σωληνάριο στον φορέα δειγμάτων (βλ. τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που μπορεί να βρεθεί κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### Ανθρώπινα ούρα «μη σταθεροποιημένα»

Προτού ξεκινήσετε ένα πρωτόκολλο που απαιτεί ρυθμιστικό διάλυμα ATL, ελέγξτε εάν έχει σχηματιστεί ίζημα στο ρυθμιστικό διάλυμα ATL. Εάν χρειάζεται, διαλύστε με θέρμανση στους 70°C και ήπια ανάδευση σε λουτρό νερού. Αναρροφήστε φυσαλίδες από την επιφάνεια του ρυθμιστικού διαλύματος ATL.

**Σημείωση:** Το ρυθμιστικό διάλυμα ATL (Buffer ATL, 4 x 50 ml, αρ. καταλ. 939016) δεν αποτελεί μέρος του kit QIAasymphony DSP Circulating DNA και πρέπει να παραγγελθεί ξεχωριστά.

Συνιστάται η φυγοκέντρηση των δειγμάτων ούρων αμέσως μετά τη συλλογή σε χαμηλή ταχύτητα (1.900 x g) για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) για την αφαίρεση των κυττάρων. Τα μη σταθεροποιημένα δείγματα ούρων απαιτούν προκαταρκτική επεξεργασία του δείγματος.

**Σημαντικό:** Τα δείγματα πρέπει να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) πριν την έναρξη της προκαταρκτικής επεξεργασίας.

**Σημαντικό:** Η φυγοκέντρηση και η προκαταρκτική επεξεργασία πρέπει να διενεργούνται εντός 4 ωρών από τη συλλογή του δείγματος ούρων.

- Αναμείξτε 2.500 μl ούρων (circDNA\_2000\_DSP) ή 4.500 μl ούρων (circDNA\_4000\_DSP) με 250 μl ή 450 μl ρυθμιστικού διαλύματος ATL, αντίστοιχα.
- Επωάστε τα δείγματα σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C) για 1 ώρα.
- Φυγοκεντρήστε τα δείγματα στους 1.900 x g για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C).

Εάν είναι ορατά ιζήματα στο υπερκείμενο μετά τη φυγοκέντρηση, θερμάνετε τα δείγματα στους 25°C σε λουτρό νερού για να διαλυθούν τα ιζήματα.

- Μεταφέρετε τα υπερκείμενα σε ένα δεύτερο σωληνάριο δείγματος και στη συνέχεια φορτώστε αυτό το σωληνάριο στον φορέα δειγμάτων (βλ. τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που μπορεί να βρεθεί κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com))

**Σημαντικό:** Η σταθερότητα και η ακεραιότητα του κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων είναι περιορισμένη σε μη σταθεροποιημένα ούρα. Συνιστάται η φόρτωση το πολύ μίας παρτίδας των 24 δειγμάτων ανά εκτέλεση QIAasympyphony για να ελαχιστοποιείται ο χρόνος των δειγμάτων ούρων επί του οργάνου.

## Παρεμβαλλόμενες ουσίες

Δείγματα πλάσματος με υψηλές συγκεντρώσεις γάμμα σφαιρίνης (>30 g/l) μπορεί να οδηγήσουν σε μειωμένη ανάκτηση κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων.

Για τις τρέχουσες πληροφορίες άδειας και αποποιήσεις σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στο σχετικό εγχειρίδιο ή οδηγίες χρήσης του kit QIAGEN. Οι οδηγίες ή τα εγχειρίδια χρήσης των kit QIAGEN είναι διαθέσιμα στο [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ή μπορούν να ζητηθούν από τις τεχνικές υπηρεσίες της QIAGEN ή από τον τοπικό σας διανομέα.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAasympyphony® (Όμιλος QIAGEN). Οι καταχωρημένες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα κ.λπ. που χρησιμοποιούνται σε αυτό το έγγραφο, δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευμένα από το νόμο, ακόμη και αν δεν επισημαίνονται ειδικά ως τέτοια.



---

02/2017 HB-2309-S01-001  
© 2017 QIAGEN, με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

