

2017년 2월

QIAasymp[®]phony

SP 프로토콜 시트

circDNA_2000_DSP_V1 및
circDNA_4000_DSP_V1

이 문서는 QIAasymp[®]phony circDNA_2000_DSP_V1 and circDNA_4000_DSP_V1 프로토콜 시트,
버전 1, R1입니다.

일반 정보

시험관내 진단용.

이 프로토콜은 QIAasymphony SP 및 QIAasymphony DSP Circulating DNA 키트를 사용한 신선 및 동결 인간 혈장 및 소변에서 인간 순환 무세포 DNA를 정제하기 위한 것입니다.

키트	QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit (카탈로그 번호 937556)
검체 재료	인간 혈장: EDTA 또는 시트레이트 항-응고 또는 ccfDNA 안정 상태 인간 소변: 비안정 또는 안정 상태
프로토콜 이름	circDNA_2000_DSP_V1 circDNA_4000_DSP_V1
기본 분석 관리 세트	ACS_circDNA_2000_DSP_V1 ACS_circDNA_4000_DSP_V1
용출량	60µl
필요한 소프트웨어 버전	버전 4.0.3 이상

"Sample" (검체) 드로워

검체 유형	인간 혈장("검체 재료 준비" 참조) 및 인간 소변(안정 또는 불안정 상태)
검체량	사용되는 검체 튜브 유형에 따라 다름 자세한 정보는 www.qiagen.com 에서 제품 페이지의 Resource(리소스) 탭 아래에 표시되는 랩웨어 목록을 참조하십시오.
기본 검체 튜브	n/a
보조 검체 튜브	자세한 정보는 www.qiagen.com 에서 제품 페이지의 Resource(리소스) 탭 아래에 표시되는 랩웨어 목록을 참조하십시오.
삽입물	n/a
기타	슬롯 A(위치 1 및/또는 위치 2)에 단백질 가수분해 효소 K를 추가해야 함

n/a = 해당되지 않음.

"Sample" 드로워에 단백질 가수분해 효소 K 준비

QIAsymphony DSP Circulating DNA 키트에는 실온에서 보관할 수 있는 즉시 사용 가능한 단백질 가수분해 효소 K 용액이 들어 있습니다.

참고: 단백질 가수분해 효소 K가 들어 있는 튜브는 튜브 캐리어에 있습니다. 단백질 가수분해 효소 K가 들어 있는 튜브를 "Sample" 드로워 슬롯 A의 위치 1 및/또는 위치 2에 놓아야 합니다. 필요한 튜브 유형은 www.qiagen.com에서 제품 페이지의 Resource(리소스) 탭 아래에 표시되는 랩웨어 목록을 참조하십시오.

검체 수*	circDNA_2000_DSP	circDNA_4000_DSP
8	1980µl	2860µl
24	3740µl	6380µl
48	6380µl	11.660ml†
96	11.660ml	22.220 ml†

* 각 검체마다, circDNA_2000_DSP의 110µl 또는 circDNA_4000_DSP의 220µl이 필요하며, 여기에 추가 공체적 1100µl[(n x 110 또는 220µl) + 1100µl]를 더해야 합니다.

† circDNA_4000_DSP의 경우: 48개 이상의 검체를 처리하는 경우 두 번째 튜브를 사용합니다. 튜브당 최대 로드량은 11.660µl입니다. 두 번째 튜브의 경우 추가 공체적 1100µl이 필요합니다.

“Reagents and Consumables” (시약 및 소모품) 드로워

위치 A1 및/또는 A2	시약 카트리지
위치 B1	n/a
팁 랙 홀더 1-18	일회용 필터 팁, 200µl 또는 1500µl
단위 상자 홀더 1-4	검체 준비 카트리지 또는 8-로드 커버를 포함하는 단위 상자

n/a = 해당되지 않음.

“Waste” (폐기물) 드로워

단위 상자 홀더 1-4	빈 단위 상자
폐기물 백 홀더	폐기물 백
폐액 병 홀더	빈 폐액 병

“Eluate” (용출액) 드로워

용출 랙(슬롯 1, 냉각 위치 사용 권장)

자세한 정보는 www.qiagen.com에서 제품 페이지의 Resource(리소스) 탭 아래에 표시되는 랩웨어 목록을 참조하십시오.

필요한 플라스틱웨어

프로토콜 circDNA_2000_DSP

플라스틱웨어	1배치 - 24개 검체*	2배치 - 48개 검체*	4배치 - 96개 검체*
일회용 필터 팁, 200µl†‡	24	48	96
일회용 필터 팁, 1500µl†‡	64	120	232
검체 준비 카트리지§	15	30	60
8-로드 커버¶	3	6	12

* 배치당 24개 이하의 검체를 사용하면 가동(run)당 일회용 필터 팁 수가 감소됩니다.

† 필터 팁 랙당 32개 필터 팁이 있습니다.

‡ 필요 필터 팁 수에는 시약 카트리지당 1회 인벤토리 스캔용 필터 팁이 포함됩니다.

§ 단위 상자당 28개 검체 준비 카트리지가 있습니다.

¶ 단위 상자당 12개 8-로드 커버가 있습니다.

프로토콜 circDNA_4000_DSP

플라스틱웨어	1배치 - 24개 검체*	2배치 - 48개 검체*	4배치 - 96개 검체*
일회용 필터 팁, 200µl†‡	24	48	96
일회용 필터 팁, 1500µl†‡	104	200	392
검체 준비 카트리지§	18	36	72
8-로드 커버¶	3	6	12

* 배치당 24개 이하의 검체를 사용하면 가동(run)당 일회용 필터 팁 수가 감소됩니다.

† 필터 팁 랙당 32개 필터 팁이 있습니다.

‡ 필요 필터 팁 수에는 시약 카트리지당 1회 인벤토리 스캔용 필터 팁이 포함됩니다.

§ 단위 상자당 28개 검체 준비 카트리지가 있습니다.

¶ 단위 상자당 12개 8-로드 커버가 있습니다.

참고: 제공된 필터 팁 수는 설정에 따라 터치 스크린에 표시되는 수와 다를 수도 있습니다. 최대 팁 수를 로드하는 것이 좋습니다.

용출량

선택한 용출량	초기 용출량
60µl	75µl

용출량은 터치스크린에서 선택됩니다. 사용 가능한 평균 용출량은 $\geq 60\mu\text{l}$ 입니다. 각각의 경우에 단일 검체에 대한 최종 용출량은 선택한 체적보다 최대 5µl가 적을 수 있습니다(즉, 55µl). 이관 전에 용출액을 확인하지 않는 자동 분석 설정 시스템을 사용할 때는 실제 용출량을 확인하는 것이 좋습니다.

용출액 보관

가동이 완료된 직후 "Eluate" 드로워에서 용출액 플레이트를 제거하는 것이 좋습니다. 밤 사이에 가동이 완료된 후 QIASymphony SP에 용출액이 남아 있을 수도 있습니다(가동 시간을 포함하여 최대 16시간, 권장 환경 조건:

18–26°C 및 상대 습도 20–75%). 온도 및 습도에 따라 용출액에 응축 또는 증발이 발생할 수 있습니다.

검체 준비 후 최대 1개월 동안 2–8°C에서 용출액을 보관할 수 있습니다. 장기간 보관 동안 용출액을 –20°C 또는 –80°C에서 보관할 수 있습니다. 동결된 용출액은 3회 이상 해동하면 안 됩니다.

검체 재료 준비

화학물질을 사용할 때는 항상 적합한 실험복, 일회용 장갑 및 보안경을 착용하십시오. 자세한 정보는 제품 공급업체에서 제공하는 해당 안전 데이터 시트(SDS)를 참조하십시오.

시작 전 중요 사항

- 검체의 거품 형성을 방지하십시오.
- 가동을 시작하기 전에 검체를 실내 온도(15–25°C)로 평형화해야 합니다.

인간 혈장

EDTA 또는 시트레이트를 항응고제로 사용하여 처리한 혈액 검체를 혈장 준비용으로 사용할 수 있습니다. ccfDNA 안정 상태 채혈 튜브에서 준비된 혈장도 사용할 수 있습니다. 혈장은 제조업체에서 지정한 대로 생성됩니다.

EDTA 또는 시트레이트를 항응고제로 사용 시 공혈 직후 혈장 분리를 수행하는 것이 좋습니다.

특정 다운스트림 분야에서는 이 작업이 소포의 핵산을 최소화하거나 배제시키는 데 필요할 수 있습니다. 이러한 경우에는 초기 혈장 생성 후 실내 온도(15–25°C)에서 10분 동안 16,000 x g의 속도로 고속 원심분리를 수행하는 것이 좋습니다.

채취 및 원심 분리 후에는 실온에서 최대 7일 그리고 2–8°C에서 최대 14일 동안 혈장을 보관할 수 있습니다. 더 오랜 기간 동안 보관하려면 –20°C 또는 –80°C에서 분취액을 동결하는 것이 좋습니다. 동결된 혈장은 3회 이상 해동하면 안 됩니다. 동결-해동을 반복하면 단백질이 변성되고 침전되어 순환 무세포 핵산의 수율이 감소될 수도 있습니다. 검체에 동결침전제제가 보이면 실온(15–25°C)에서 3분 동안 6,800 x g의 속도로 원심분리한 후 알갱이를 휘젓지 않고 상청액을 보조 검체 튜브로 이관하십시오(www.qiagen.com에서 제품 페이지의 Resource(리소스) 탭 아래에 표시되는 랩웨어 목록 참조). 정제 절차를 즉시 시작하십시오.

인간 소변

소변 채취 후 순환 무세포 DNA의 품질이 급격히 저하되므로 소변 검체를 즉시 안정화할 것을 적극적으로 권장합니다.

안정 상태의 인간 소변

안정 상태 소변은 실온(15–25°C) 또는 2–8°C에서 최대 7일 동안 보관할 수 있습니다. 더 오랜 기간 동안 보관하려면 –20°C 또는 –80°C에서 분취액을 동결하는 것이 좋습니다.

안정 상태 소변 검체에는 검체 전처리가 필요하지 않습니다. 안정화 이후에는 소변 검체를 실내 온도(15–25°C)에서 10분 동안 저속(1900 x g)으로 원심분리하여 순환 무세포 DNA 추출 전에 세포를 제거하는 것이 좋습니다. 원심분리 후 상청액에 침전물이 보이는 경우 검체를 수조에서 25°C로 데워서 침전물을 용해하십시오. 가동을 시작하기 전에 안정 상태 소변 검체를 보조 검체 튜브로 이관한 다음 검체 캐리어에 이 튜브를 로드하십시오(www.qiagen.com에서 제품 페이지의 Resource(리소스) 탭 아래에 표시되는 랩웨어 목록 참조).

인간 소변 “비안정 상태”

완충액 ATL이 필요한 프로토콜을 시작하기 전에 완충액 ATL에 침전물이 형성되었는지 여부를 확인하십시오. 필요할 경우 수조를 가볍게 휘저으면서 70°C에서 가열하여 용해하십시오. 완충액 ATL의 표면에서 기포를 제거하십시오.

참고: 완충액 ATL(Buffer ATL(완충액 ATL), 4 x 50ml, 카탈로그 번호 939016)은 QIAAsymphony DSP Circulating DNA 키트에 포함되어 있지 않으므로 별도로 구매해야 합니다.

소변 검체를 채취 직후 실내 온도(15–25°C)에서 10분 동안 저속(1900 x *g*)으로 원심분리하여 세포를 제거하는 것이 좋습니다. 불안정 상태 소변 검체에는 검체 전처리가 필요합니다.

중요: 전처리를 시작하기 전에 검체를 실내 온도(15–25°C)로 평형화하십시오.

중요: 소변 검체 채취 후 4시간 이내에 원심분리 및 전처리를 수행해야 합니다.

- 각각 250µl 또는 450µl 완충액 BTL이 포함된 2500µl의 소변(circDNA_2000_DSP) 또는 4500µl의 소변(circDNA_4000_DSP)을 섞으십시오.
- 1시간 동안 실내 온도(15–25°C)에서 검체를 배양하십시오.
- 실내 온도(15–25°C)에서 10분 동안 1900 x *g*의 속도로 검체를 원심분리하십시오.
원심분리 후 상청액에 침전물이 보이는 경우 검체를 수조에서 25°C로 데워서 침전물을 용해하십시오.
- 상청액을 보조 검체 튜브로 이관하고 나서 검체 캐리에 이 튜브를 로드하십시오(www.qiagen.com에서 제품 페이지의 Resource(리소스) 탭 아래에 표시되는 랩웨어 목록 참조).

중요: 불안정 상태 소변에서는 순환 무세포 DNA의 안정성 및 무결성이 제한적입니다. QIAAsymphony 가동당 최대 24개 검체로 이루어진 배치 하나를 로드하여 소변 검체의 온보드 시간을 최소화하는 것이 좋습니다.

물질 간섭

혈장 검체의 감마-글로불린(>30 g/l) 농도가 높으면 순환 무세포 DNA의 회복이 감소될 수 있습니다.

최신 라이선스 정보 및 제품별 법적 고지 정보는 QIAGEN 키트 핸드북 또는 사용 설명서를 참조하십시오. QIAGEN 키트 핸드북 및 사용 설명서는 www.qiagen.com에서 확인하거나 QIAGEN 기술 서비스 부서 또는 현지 판매업체에 요청할 수 있습니다.

상표: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAAsymphony®(QIAGEN Group). 이 문서에 사용되는 등록된 이름, 상표 등은 등록된 명칭으로 특별히 표시되지 않았더라도 법에 의해 보호되는 것으로 간주됩니다.

02/2017 HB-2309-S01-001

© 2017 QIAGEN, all rights reserved.

