

Februar 2017

# QIAsymphony® SP protokollark

circDNA\_2000\_DSP\_V1 og  
circDNA\_4000\_DSP\_V1

Dette dokumentet er QIAsymphony circDNA\_2000\_DSP\_V1 og circDNA\_4000\_DSP\_V1-  
protokollark, versjon 1, R1

## Generell informasjon

Til bruk i vitro-diagnostikk.

Denne protokollen er beregnet på rensing av humant sirkulerende celledfritt DNA fra ferskt eller frossent humant plasma og urin ved bruk av QIASymphony SP og QIASymphony DSP sirkulerende DNA-sett.

<b>Sett</b>	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (kat.nr. 937556)
<b>Prøvemateriale</b>	Humant plasma: EDTA- eller sitrat-anti-koagulert, eller ccfDNA-stabilisert Human urin: ikke-stabilisert eller stabilisert
<b>Protokollnavn</b>	circDNA_2000_DSP_V1 circDNA_4000_DSP_V1
<b>Standard analysekontrollsett</b>	ACS_circDNA_2000_DSP_V1 ACS_circDNA_4000_DSP_V1
<b>Elueringsvolum</b>	60 µl
<b>Nødvendig programvareversjon</b>	Versjon 4.0.3 eller høyere

## Skuffen «Sample» (prøve)

<b>Prøvetype</b>	Humant plasma (se «Preparation of sample material») og human urin (stabilisert eller ikke-stabilisert)
<b>Prøvevolum</b>	Avhengig av typen prøverør som brukes Se laboratorieutstyrslisten under ressursfanen på produksiden på <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> for mer informasjon.
<b>Primære prøverør</b>	ikke relevant
<b>Sekundære prøverør</b>	Se laboratorieutstyrslisten under ressursfanen på produksiden på <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> for mer informasjon.
<b>Innlegg</b>	ikke relevant
<b>Annet</b>	Proteinase K må legges til i spor A (posisjon 1 og/eller 2)

n/a = ikke relevant.

## Klargjøring av proteinase K i «Sample»-skuffen

QIASymphony DSP sirkulerende DNA-sett inneholder ferdigblandet proteinase K-løsning som kan oppbevares i romtemperatur.

**Merk:** Slinger som inneholder proteinase K er plassert i en prøveholder. Røret/rørene som inneholder proteinase K må plasseres i posisjon 1 og/eller 2 i spor A i «Sample»-skuffen. Se laboratoriestyrslisten under ressursfanen på produktsiden på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) for informasjon om påkrevd rørtype.

Antall prøver*	circDNA_2000_DSP	circDNA_4000_DSP
8	1980 µl	2860 µl
24	3740 µl	6380 µl
48	6380 µl	11,660 ml†
96	11,660 ml	22,220 ml†

\* For hver prøve er 110 µl for circDNA\_2000\_DSP eller 220 µl for circDNA\_4000\_DSP påkrevd, i tillegg til et ekstra tomvolum på 1100 µl [(n x 110 eller 220 µl) + 1100 µl].

† For circDNA\_4000\_DSP: Hvis flere enn 48 prøver behandles, må du bruke et ytterligere rør. Maksimalt innlastingsvolum per rør er 11,660 µl. For det andre røret er et ekstra tomvolum på 1100 µl nødvendig.

## Skuffen «Reagents and Consumables» (reagenser og forbruksvarer)

<b>Posisjon A1 og/eller A2</b>	Reagenskassett
<b>Posisjon B1</b>	ikke relevant
<b>Spisstativholder 1-18</b>	Engangsfilterspisser, 200 µl eller 1500 µl
<b>Enhetsbokholder 1-4</b>	Enhetsbokser inneholder prøveklargjøringskassetter eller 8-stangdeksler

n/a = ikke relevant.

## Skuffen «Waste» (avfall)

<b>Enhetsbokholder 1-4</b>	Tomme enhetsbokser
<b>Avfallsposeholder</b>	Avfallspose
<b>Holder for væskeavfallsflaske</b>	Tom væskeavfallsflaske

## Skuffen «Eluate» (eluat)

<b>Elueringsstativ (det er anbefalt å bruke spor 1, nedkjølingsposisjon)</b>	Se laboratoriestyrslisten under ressursfanen på produktsiden på <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> for mer informasjon.
--	---

## Nødvendige plastdeler

### Protokoll circDNA\_2000\_DSP

Plastdeler	Én omgang, 24 prøver*	To omganger 48 prøver*	Fire omganger 96 prøver*
Engangsfilterspisser, 200 µl <sup>†‡</sup>	24	48	96
Engangsfilterspisser, 1500 µl <sup>†‡</sup>	64	120	232
Prøveklargjøringskassetter <sup>§</sup>	15	30	60
8-stangdeksler <sup>¶</sup>	3	6	12

\* Bruk av mindre enn 24 prøver per omgang reduserer antall filterspisser til engangsbruk som kreves per kjøring.

<sup>†</sup> Det finnes 32 filterspisser/filterspisstativ.

<sup>‡</sup> Antall nødvendige filterspisser inkluderer filterspisser for 1 inventarskanning per reagenskasset.

<sup>§</sup> Det finnes 28 prøveklargjøringskassetter/enhetsboks.

<sup>¶</sup> Det finnes tolv 8-stangdeksler/enhetsboks.

### Protokoll circDNA\_4000\_DSP

Plastdeler	Én omgang, 24 prøver*	To omganger 48 prøver*	Fire omganger 96 prøver*
Engangsfilterspisser, 200 µl <sup>†‡</sup>	24	48	96
Engangsfilterspisser, 1500 µl <sup>†‡</sup>	104	200	392
Prøveklargjøringskassetter <sup>§</sup>	18	36	72
8-stangdeksler <sup>¶</sup>	3	6	12

\* Bruk av mindre enn 24 prøver per omgang reduserer antall filterspisser til engangsbruk som kreves per kjøring.

<sup>†</sup> Det finnes 32 filterspisser/filterspisstativ.

<sup>‡</sup> Antall nødvendige filterspisser inkluderer filterspisser for 1 inventarskanning per reagenskasset.

<sup>§</sup> Det finnes 28 prøveklargjøringskassetter/enhetsboks.

<sup>¶</sup> Det finnes tolv 8-stangdeksler/enhetsboks.

**Merk:** Antall filterspisser som gis, kan være forskjellig fra det antallet som vises på berørings skjermen, avhengig av innstillingene. Det er anbefalt å laste inn maksimalt mulig antall spisser.

## Elueringsvolum

Valgt elueringsvolum	Innledende elueringsvolum
60 µl	75 µl

Elueringsvolum velges på berøringsskjermen. Gjennomsnittlig tilgjengelig elueringsvolum er  $\geq 60$  µl. I enkelte tilfeller kan det endelige eluatvolumet for enkeltprøver være opptil 5 µl mindre enn det valgte volumet (f.eks. 55 µl). Det er anbefalt å kontrollere det faktiske eluatvolumet ved bruk av et automatisert analyseoppsettssystem som ikke bekrefter eluatvolumet før overføring.

## Oppbevaring av eluater

Det er anbefalt å fjerne eluatplaten fra «Eluate»-skuffen umiddelbart når kjøringen er fullført. Elueringsplater kan bli værende i QIAasympy SP når kjøringen er fullført over natten (maksimalt 16 timer inkludert kjøretid; anbefalte miljøforhold:

18–26 °C og 20–75 % relativ luftfuktighet). Avhengig av temperatur og luftfuktighet, kan eluatet oppleve kondensering eller fordampning.

Etter klargjøring av prøver, kan eluater oppbevares ved 2–8 °C i opptil én måned. For langvarig oppbevaring kan eluater oppbevares ved –20 °C eller at –80 °C. Frosne eluater skal ikke fines opp mer enn 3 ganger.

## Klargjøring av prøvemateriale

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Du finner mer informasjon på de aktuelle sikkerhetsdatabladene (HMS-databladene) som fås fra leverandøren av produktet.

### Viktige punkter før du starter

- Forhindre dannelsen av skum i eller på prøvene.
- Prøver skal romtempereres (15–25 °C) før kjøringen startes.

### Humant EDTA-plasma

Blodprøver behandlet med EDTA eller sitrat som antikoagulant kan brukes til klargjøring av plasma. Plasma klargjort fra ccfDNA-stabiliserte blodprøver kan også brukes. Plasma genereres som angitt av produsenten.

Det er anbefalt å utføre plasmaseparasjon umiddelbart etter bloddonasjon ved bruk av EDTA eller sitrat som antikoagulant.

For enkelte nedstrømsapplikasjoner kan det være nødvendig å utelukke eller minimere nukleinsyre fra vesiklene. I slike tilfeller er det anbefalt å utføre et hurtig sentrifugeringstrinn ved 16.000 x g i 10 minutter i romtemperatur (15–25 °C) etter innledende plasmagenerering.

Etter prøvetaking og sentrifugering kan plasma oppbevares i romtemperatur i opptil 7 dager og ved 2–8 °C i opptil 14 dager. For lengre oppbevaring er det anbefalt å fryse aliquoter ved -20 °C eller -80 °C. Frossent plasma skal ikke tines opp mer enn 3 ganger. Gjentatt frysing/tining fører til denaturasjon og utfelling av proteiner, hvilket kan føre til redusert utmating av sirkulerende cellefrie nukleinsyrer. Hvis kryobunnfall er synlig i prøvene, sentrifuger 6.800 x g i 3 minutter i romtemperatur (15–25 °C) og overfør supernatantene uten å forstyrre pelletene til et sekundærprøverør (se laboratorieutstyrslisten under ressursfanen på produktsiden på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)). Start renseprosedyren umiddelbart.

## Human urin

Grunnet rask nedbrytning av sirkulerende cellefritt DNA etter urininsamling, anbefales det på det sterkeste å stabilisere urinprøver umiddelbart.

### Stabilisert human urin

Stabilisert urin kan oppbevares i romtemperatur (15–25 °C) eller ved 2–8 °C i opptil 7 dager. For lengre oppbevaring er det anbefalt å fryse aliquoter ved -20 °C eller -80 °C.

Stabiliserte prøver trenger ingen forbehandling. Etter stabilisering, er det anbefalt å sentrifugere urinprøver med lav hastighet (1.900 x g) i 10 minutter i romtemperatur (15–25 °C) for å fjerne celler før ekstraksjon av sirkulerende cellefritt DNA. Hvis bunnfall er synlig i supernatanter etter sentrifugering, må prøvene varmes opp til 25 °C i et vannbad for å løse opp bunnfallet. Før du starter en kjøring, må du overføre stabiliserte urinprøver til et sekundærprøverør og deretter laste dette røret på prøveholderen (se laboratorieutstyrslisten under ressursfanen på produktsiden på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### Human urin «ikke-stabilisert»

Før du starter en protokoll som krever buffer ATL, må du kontrollere om bunnfall er dannet i buffer ATL. Ved behov, løs opp ved å varme opp ved 70 °C med forsiktig rysting i et vannbad. Aspirer bobler fra overflaten av buffer ATL.

**Merk:** Buffer ATL (Buffer ATL, 4 x 50 ml, kat.nr. 939016) er ikke en del av QIAAsymphony DSP sirkulerende DNA-sett, og må bestilles separat.

Det er anbefalt å sentrifugere urinprøver umiddelbart etter innsamling med lav hastighet (1.900 x g) i 10 minutter i romtemperatur (15–25 °C) for å fjerne celler. Ikke-stabiliserte prøver trenger forbehandling.

**Viktig:** Romtemperer prøvene (15–25 °C) før du starter forhåndsbehandlingen.

**Viktig:** Sentrifugering og forhåndsbehandling skal utføres innen 4 timer etter innsamling av urinprøven.

- Bland 2500 µl urin (circDNA\_2000\_DSP) eller 4500 µl urin (circDNA\_4000\_DSP) med henholdsvis 250 µl eller 450 µl buffer ATL.
- Inkuber prøvene i romtemperatur (15–25 °C) i 1 time.
- Sentrifuger prøver ved 1900 x g i 10 minutter i romtemperatur (15–25 °C).  
Hvis bunnfall er synlig i supernatanter etter sentrifugering, må prøvene varmes opp til 25 °C i et vannbad for å løse opp bunnfallet.
- Overfør supernatanter til et sekundærprøverør og last deretter dette røret på prøveholderen (se laboratoreutstyrslisten under ressursfanen på produktsiden på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com))

**Viktig:** Stabiliteten og integriteten til sirkulerende cellefritt DNA er begrenset i ikke-stabilisert urin. Det er anbefalt å laste inn maksimalt én omgang på 24 prøver per QIAAsymphony-kjøring for å minimere tiden urinprøvene er innlastet.

## Forstyrrende substanser

Plasmaprøver med høye konsentrasjoner av gamma-globulin (>30 g/l) kan føre til redusert gjenoppretting av sirkulerende cellefritt DNA.

For oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfrasingelser, se den respektive håndboken eller brukerhåndboken for QIAGEN-settet. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN-sett er tilgjengelige på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan anmodes fra QIAGENs tekniske tjenester eller din lokale distributør.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAAsymphony® (QIAGEN Group). Registrerte navn, varmerker osv. som brukes i dette dokumentet skal ikke betraktes som ubeskyttet av lov, selv om de ikke spesifikt er merket som dette.  
02/2017 HB-2309-S01-001  
© 2017 QIAGEN, med enerett.





