

Februari 2017

# QIAasymp<sup>®</sup>phony SP-protokollblad

circDNA\_2000\_DSP\_V1 och  
circDNA\_4000\_DSP\_V1

Detta dokument är QIAasymp<sup>®</sup>phony circDNA\_2000\_DSP\_V1 och circDNA\_4000\_DSP\_V1  
protokollblad, version 1, R1

## Allmän information

För in vitro-diagnostisk användning.

Detta protokoll är avsett för rening av humant cirkulerande cellfritt DNA från färsk eller frusen human plasma och urin med QIAasymphony SP och QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit.

<b>Kit</b>	QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit (katalognr 937556)
<b>Provmaterial</b>	Human plasma: EDTA- eller citrat-antikoagulerad, eller ccfDNA-stabiliserad Human urin: icke-stabiliserad eller stabiliserad
<b>Protokollnamn</b>	circDNA_2000_DSP_V1 circDNA_4000_DSP_V1
<b>Förvald analyskontrolluppsättning</b>	ACS_circDNA_2000_DSP_V1 ACS_circDNA_4000_DSP_V1
<b>Elueringsvolym</b>	60 µl
<b>Nödvändig programversion</b>	Version 4.0.3 eller senare

## Lådan "Sample" (prov)

<b>Provtyp</b>	Human plasma (se "Preparation of sample material") och human urin (stabiliserad eller icke-stabiliserad)
<b>Provolym</b>	Beror på vilken typ av provrör som används Det finns mer information i listan med labbmateriel som finns under resursfliken på produktsidan på <b>www.qiagen.com</b> .
<b>Primära provrör</b>	Ej relevant
<b>Sekundära provrör</b>	Det finns mer information i listan med labbmateriel som finns under resursfliken på produktsidan på <b>www.qiagen.com</b> .
<b>Insatser</b>	Ej relevant
<b>Övrigt</b>	Proteinas K måste tillsättas i skåra A (position 1 och/eller 2)

n/a = ej relevant.

## Beredning av proteinas K i lådan "Sample"

QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit innehåller bruksfärdig proteinas K-lösning som kan förvaras i rumstemperatur.

**Obs!** Rör som innehåller proteinas K placeras i en provrörshållare. Röret/rören som innehåller proteinas K ska placeras i position 1 och/eller 2 i skåra A i lådan "Sample". När det gäller lämplig provrörstyp, se listan med labbmateriel som finns under resursfliken på produktsidan på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Antal prover*	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†
96	11,660 ml	22,220 ml†

\* För varje exempel krävs 110 µl för circDNA\_2000\_DSP eller 220 µl för circDNA\_4000\_DSP, plus en extra tom volym på 1 100 µl [(n x 110 eller 220 µl) + 1 100 µl].

† För circDNA\_4000\_DSP: Om fler än 48 prover behandlas ska du använda ett rör till. Den maximala laddningsvolymen per rör är 11,660 µl. För det andra röret krävs en extra tom volym på 1 100 µl.

## Lådan "Reagents and Consumables" (Reagens och förbrukningsmaterial)

<b>Position A1 och/eller A2</b>	Reagenskassett
<b>Position B1</b>	Ej relevant
<b>Spetsrackhållare 1-18</b>	Engångsfilterspetsar, 200 µl eller 1 500 µl
<b>Hållare för enhetslådor 1-4</b>	Enhetslådor som innehåller provprepareringskassetter eller 8-stavsskydd

n/a = ej relevant.

## Lådan "Waste" (Avfall)

<b>Hållare för enhetslådor 1-4</b>	Tomma enhetslådor
<b>Avfallspåshållare</b>	Avfallspåse
<b>Hållare för flaska för flytande avfall</b>	Tom flaska för flytande avfall

## Lådan "Eluate" (Eluat)

**Elueringsställ (vi rekommenderar användning av skåra 1, nedkylningsposition)**

Det finns mer information i listan med labbmateriel som finns under resursfliken på produktsidan på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Erforderliga plastartiklar

### Protokoll circDNA\_2000\_DSP

Plastartiklar	En batch 24 prover*	Två batcher 48 prover*	Fyra batcher 96 prover*
Engångsfilterspetsar, 200 µl <sup>†‡</sup>	24	48	96
Engångsfilterspetsar, 1500 µl <sup>†‡</sup>	64	120	232
Provbered.kassetter <sup>§</sup>	15	30	60
8-stavsskydd <sup>¶</sup>	3	6	12

\* Om färre än 24 prover per batch används, krävs det färre engångsfilterspetsar per körning.

† Det finns 32 filterspetsar/filterspetsställ.

‡ Antalet filterspetsar som krävs inbegriper filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenskasset.

§ Det finns 28 provberedningskassetter/enhetslåda.

¶ Det finns tolv 8-stavsskydd/enhetslåda.

### Protokoll circDNA\_4000\_DSP

Plastartiklar	En batch 24 prover*	Två batcher 48 prover*	Fyra batcher 96 prover*
Engångsfilterspetsar, 200 µl <sup>†‡</sup>	24	48	96
Engångsfilterspetsar, 1500 µl <sup>†‡</sup>	104	200	392
Provbered.kassetter <sup>§</sup>	18	36	72
8-stavsskydd <sup>¶</sup>	3	6	12

\* Om färre än 24 prover per batch används, krävs det färre engångsfilterspetsar per körning.

† Det finns 32 filterspetsar/filterspetsställ.

‡ Antalet filterspetsar som krävs inbegriper filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenskasset.

§ Det finns 28 provberedningskassetter/enhetslåda.

¶ Det finns tolv 8-stavsskydd/enhetslåda.

**Obs!** Beroende på inställningarna kan antalet givna filterspetsar skilja sig från de siffror som visas på pekskärmen. Vi rekommenderar att du laddar maximalt antal spetsar.

## Elueringsvolym

Vald elueringsvolym	Initial elueringsvolym
60 µl	75 µl

Elueringsvolymen väljs på pekskärmen. Den genomsnittliga tillgängliga elueringsvolymen är  $\geq 60$  µl. I enskilda fall kan den slutliga eluatvolymen för enskilda prover vara upp till 5 µl mindre än den valda volymen (t.ex. 55 µl). Det rekommenderas att du kontrollerar den faktiska eluatvolymen när du använder ett automatiserat analysinställningssystem som inte verifierar eluatvolymen innan överföringen.

## Förvaring av eluat

Det rekommenderas att du tar bort eluatplattan från lådan "Eluate" omedelbart efter att körningen har slutförts. Elueringsplattor kan lämnas kvar över natten i QIAsymphony SP när körningen är avslutad (högst 16 timmar inklusive körningstid; rekommenderade miljöförhållanden:

18–26 °C och 20–75 % relativ luftfuktighet). Beroende på temperatur och luftfuktighet kan eluat kondenseras eller avdunsta.

Efter provberedning kan eluat förvaras vid 2–8 °C i upp till 1 månad. För långvarig förvaring kan eluat förvaras vid –20 °C eller vid –80 °C. Frysta eluat får inte tinas fler än tre gånger.

## Förberedelse av provmaterial

Använd alltid lämplig laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Mer information finns i tillämpliga säkerhetsdatablad (SDS) som kan erhållas från produktleverantören.

### Viktigt att tänka på före start

- Undvik skumbildning i eller på proven.
- Proverna måste uppnå rumstemperatur (15–25 °C) innan körningen startas.

## Human plasma

Blodprover som behandlats med EDTA eller citrat som antikoagulantia kan användas för plasmapreparering. Även plasma som beretts från ccfDNA-stabiliserade blodprovsrör kan användas. Plasma genereras enligt tillverkarens specifikationer.

Det rekommenderas att du utför plasmaseparation omedelbart efter blodgivning när du använder EDTA eller citrat som antikoagulant.

För vissa nedströmsapplikationer kan det vara nödvändigt att utesluta eller minimera nukleinsyror från vesiklar. I sådana fall rekommenderas höghastighetscentrifugering vid 16 000 x g i 10 minuter vid rumstemperatur (15–25 °C) efter initial plasmagenerering.

Efter provtagning och centrifugering kan plasma förvaras vid rumstemperatur i upp till 7 dagar och vid 2–8 °C i upp till 14 dagar. För längre förvaring rekommenderas infrysning av alikvoter vid –20 °C eller –80 °C. Fryst plasma får inte tinas fler än tre gånger. Upprepad frysning-tining leder till denaturering och fällning av proteiner, vilket potentiellt leder till reducerade utbyten av cirkulerande cellfria nukleinsyror. Om kryofällningar är synliga i proverna, ska du centrifugera vid 6 800 x g i 3 minuter vid rumstemperatur (15–25 °C) och överföra supernatanterna utan att störa pelletarna till ett sekundärt provrör (se labbmateriellista som finns under resursfliken på produktsidan på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)). Starta reningsproceduren omedelbart.

## Human urin

På grund av den snabba nedbrytningen av cirkulerande cellfritt DNA efter urinprovtagning rekommenderas starkt att urinprover stabiliseras omedelbart.

### Stabiliserad human urin

Stabiliserad urin kan förvaras vid rumstemperatur (15–25 °C) eller vid 2–8 °C i upp till 7 dagar. För längre förvaring rekommenderas infrysning av alikvoter vid –20 °C eller –80 °C.

Stabiliserade urinprover behöver inte förbehandlas. Efter stabilisering rekommenderas att urinprover centrifugeras vid låg hastighet (1 900 x g) i 10 minuter vid rumstemperatur (15–25 °C) för att avlägsna celler innan extraktion av cirkulerande cellfritt DNA. Om det syns fällningar i supernatanter efter centrifugering kan proverna värmas till 25 °C i ett vattenbad så att fällningarna upplöses. Innan du startar en körning överför du stabiliserade urinprover till ett sekundärt provrör och laddar sedan detta rör i provrörshållaren (se labbmateriellista som finns under resursfliken på produktsidan på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### ”Icke-stabiliserad” human urin

Innan du startar ett protokoll som kräver ATL-buffert kontrollerar du att det inte har bildats en fällning i ATL-bufferten. Vid behov kan du lösa upp fällningen genom upphettning vid 70 °C med försiktig omskakning i ett vattenbad. Aspirera bubblor från ytan på ATL-buffert.

**Obs!** ATL-buffert (Buffer ATL 4 x 50 ml, katalognr 939016) ingår inte i QIAasympy DSP Circulating DNA Kit utan måste beställas separat.

Det rekommenderas att urinprover centrifugeras omedelbart efter provtagning vid låg hastighet (1 900 x g) i 10 minuter vid rumstemperatur (15–25 °C) för att avlägsna celler. Icke-stabiliserade urinprover måste förbehandlas.

**Viktigt!** Låt proverna få rumstemperatur (15–25 °C) innan förbehandlingen inleds.

**Viktigt!** Centrifugering och förbehandling ska utföras inom 4 timmar efter urinprovtagning.

- Blanda 2 500 µl urin (circDNA\_2000\_DSP) eller 4 500 µl urin (circDNA\_4000\_DSP) med 250 µl eller 450 µl ATL-buffert.
- Inkubera proverna vid rumstemperatur (15–25 °C) i 1 timme.
- Centrifugera prover vid 1 900 x g i 10 minuter vid rumstemperatur (15–25 °C).  
Om det syns fällningar i supernatanten efter centrifugering kan proverna värmas till 25 °C i ett vattenbad så att fällningarna upplöses.
- Överför supernatanter till ett sekundärt provrör och ladda sedan detta rör i provrörshållaren (se labbmateriellista som finns under resursfliken på produktsidan på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

**Viktigt!** Stabilitet och integritet för cirkulerande cellfritt DNA är begränsad i icke-stabiliserad urin. Det rekommenderas att du laddar maximalt en batch med 24 prover per QIAasympy-körning för att minimera tiden som urinproverna finns i maskinen.

## Interfererande substanser

Plasmaprover med höga koncentrationer av gammaglobulin (>30 g/l) kan leda till reducerad återvinning av cirkulerande cellfritt DNA.

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive QIAGEN-kithandbok eller -bruksanvisning. QIAGEN-kithandböcker och bruksanvisningar finns att tillgå på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan beställas från QIAGEN:s tekniska serviceavdelning eller från lokal återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAasympy® (QIAGEN Group). Registrerade namn, varumärken osv. som används i detta dokument, även när de inte uttryckligen har markerats som sådana, får inte betraktas som oskyddade i lag.  
02/2017 HB-2309-S01-001  
© 2017 QIAGEN, med ensamrätt.

