

# QIAsymphony<sup>®</sup> DSP Circulating DNA Kit 使用説明書（プロトコールシート）

circDNA\_1000\_DSP\_V1、circDNA\_2000\_DSP\_V3、circDNA\_4000\_DSP\_V3  
バージョン 2

**IVD**

体外診断用医薬品

QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit 専用

**CE**

**REF**

937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ドイツ

R2

本プロトコールシートの電子版は、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページの  
リソースタブ下にあります。

## 全般情報

体外診断用医薬品。

このプロトコールは、QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit と QIAsymphony SP 装置を使用し、新鮮なあるいは凍結したヒトの血漿と尿からヒト循環無細胞 DNA を精製するためのものです。

キット	QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit		
カタログ番号	937556		
サンプル材料	ヒト血漿： <ul style="list-style-type: none"><li>ccfDNA プロファイル安定剤（Cell-Free DNA BCT<sup>®</sup>、 Streck<sup>®</sup>など）を含む血液採取チューブから</li><li>ccfDNA プロファイル安定剤（EDTA など）を含まない血液採取チューブから</li></ul> ヒト尿： <ul style="list-style-type: none"><li>ccfDNA プロファイル安定剤を含む</li><li>ccfDNA プロファイル安定剤を含まない</li></ul>		
プロトコール名	circDNA_1000_DSP_V1	circDNA_2000_DSP_V3	circDNA_4000_DSP_V3
デフォルトのアッセイコントロールセット	ACS_circDNA_1000_DSP_V1	ACS_circDNA_2000_DSP_V3	ACS_circDNA_4000_DSP_V3
溶出量	60 µL	60 µL	60 µL
必要なソフトウェアバージョン	バージョン 5.0 以降	バージョン 4.0 以降	バージョン 5.0 以降
IVD の使用に必要なソフトウェア構成	デフォルトプロファイル 1	デフォルトプロファイル 1	デフォルトプロファイル 1

薬品を取り扱う際には、必ず適切な白衣を着用し、使い捨ての手袋と保護メガネを使用してください。詳細は、製品の供給元が提供する適切な安全データシート（Safety Data Sheet, SDS）を参照してください。

## 「Sample（サンプル）」ドロワー

サンプルのタイプ	ヒト血漿および尿（「サンプル材料の調製」参照）
サンプル量	使用するサンプルチューブのタイプにより異なります。 詳細は、 <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> の製品ページのリソースタブ下にある実験器具リストをご覧ください。
一次サンプルチューブ	該当なし
二次サンプルチューブ	詳細は、 <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> の製品ページのリソースタブにある実験器具リストをご覧ください。
インサート	使用するサンプルチューブのタイプにより異なります。 詳細は、 <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> の製品ページのリソースタブ下にある実験器具リストをご覧ください。
その他	プロテイナーゼ K は、スロット A（位置 1、2、3）に添加する必要があります。

n/a = 該当なし。

## 「Sample (サンプル) 」ドロワーでプロテイナーゼ K を調製

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit には、室温で保存可能なすぐに使えるプロテイナーゼ K 溶液が含まれています。

**注釈：**異なるロット番号のキット間でプロテイナーゼ K 容器を入れ替えないでください。該当するキットで提供されたプロテイナーゼ K 溶液を必ず使用してください。

**注釈：**プロテイナーゼ K を入れたチューブをチューブキャリアにセットします。プロテイナーゼ K を入れたチューブを優先的に位置 1 にセットしなければなりません。複数のチューブをロードしなければならない場合は、Sample (サンプル) 」ドロワーのスロット A の位置 1、2、3 にセットする必要があります。必要なチューブのタイプについては、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにある実験器具リストをご覧ください。

サンプル数*	circDNA_1000_DSP (µL)	circDNA_2000_DSP (µL)	circDNA_4000_DSP (µL)
8	1580	1980	2860
24	2540	3740	6380
48	3980	6380	11 660
72	5420	9020	18 040 <sup>†</sup>
96	6860	11 660	23 320 <sup>†</sup>

\* circDNA\_1000\_DSP では 60 µL、circDNA\_2000\_DSP では 110 µL、circDNA\_4000\_DSP では 220 µL が各サンプルに必要です。さらに 1100 µL [ (n x 60、110 µL または 220 µL) + 1100 µL ] の空隙量が必要です。

<sup>†</sup> circDNA\_4000\_DSP の場合：48 を超えるサンプルを処理する場合は、2 本目のチューブを使用してください。チューブ 1 本当たりの最大充填量は 11 660 µL です。2 本目のチューブには、1100 µL の空隙量がさらに必要です。

## 「Reagents and Consumables (試薬および消耗品) 」ドロワー

位置 A1 または A2 (あるいは両方)	試薬カートリッジ (RC)
位置 B1	該当なし
チップラックホルダー1~18	使い捨てフィルターチップ、200 µL または 1500 µL
ユニットボックスホルダー1~4	サンプル調製カートリッジまたは 8 Rod Covers を格納したユニットボックス

n/a = 該当なし。

## 「Waste (廃棄物) 」ドロワー

ユニットボックスホルダー1~4	空のユニットボックス
廃棄物バッグホルダー	廃棄物バッグ
廃液ボトルホルダー	廃液ボトル

## 「Eluate (溶出液) 」ドロワー

溶出ラック (冷却ポジションであるスロット 1 の使用を推奨)	詳細は、 <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> の製品ページのリソースタブ下にある実験器具リストをご覧ください。
---------------------------------	--

## 必要なプラスチック製品

### プロトコール circDNA\_1000\_DSP

プラスチック製品	1 バッチ 24 サンプル*	2 バッチ 48 サンプル*	3 バッチ 72 サンプル*	4 バッチ 96 サンプル*
Disposable filter tips, 200 $\mu$ l <sup>† ‡</sup>	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 $\mu$ l <sup>† ‡</sup>	64	120	176	232
Sample prep cartridges <sup>§</sup>	15	30	45	60
8-Rod Covers <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* 各バッチで使用するサンプル数が 24 より少ない場合は、1 回の分析に必要な使い捨てのフィルターチップの数が少なくて済みます。

† 1 つのチップラックに 32 個のフィルターチップが入っています。

‡ 必要なフィルターチップの数には、1 つの RC に対して在庫スキャンを 1 回行うのに必要なフィルターチップが含まれています。

§ 1 つのユニットボックスに 28 個のサンプル調製カートリッジが入っています。

¶ 1 つのユニットボックスに 12 個の 8-Rod Covers が入っています。

### プロトコール circDNA\_2000\_DSP

プラスチック製品	1 バッチ 24 サンプル*	2 バッチ 48 サンプル*	3 バッチ 72 サンプル*	4 バッチ 96 サンプル*
Disposable filter-tips, 200 $\mu$ l <sup>† ‡</sup>	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 $\mu$ l <sup>† ‡</sup>	64	120	176	232
Sample prep cartridges <sup>§</sup>	15	30	45	60
8-Rod Covers <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* 各バッチで使用するサンプル数が 24 より少ない場合は、1 回の分析に必要な使い捨てのフィルターチップの数が少なくて済みます。

† 1 つのチップラックに 32 個のフィルターチップが入っています。

‡ 必要なフィルターチップの数には、1 つの RC に対して在庫スキャンを 1 回行うのに必要なフィルターチップが含まれています。

§ 1 つのユニットボックスに 28 個のサンプル調製カートリッジが入っています。

¶ 1 つのユニットボックスに 12 個の 8-Rod Covers が入っています。

### プロトコール circDNA\_4000\_DSP

プラスチック製品	1 バッチ 24 サンプル*	2 バッチ 48 サンプル*	3 バッチ 72 サンプル*	4 バッチ 96 サンプル*
Disposable filter-tips, 200 $\mu$ l <sup>† ‡</sup>	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 $\mu$ l <sup>† ‡</sup>	104	200	298	394
Sample prep cartridges <sup>§</sup>	18	36	54	72
8-Rod Covers <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* 各バッチで使用するサンプル数が 24 より少ない場合は、1 回の分析に必要な使い捨てのフィルターチップの数が少なくて済みます。

† 1 つのチップラックに 32 個のフィルターチップが入っています。

‡ 必要なフィルターチップの数には、1 つの RC に対して在庫スキャンを 1 回行うのに必要なフィルターチップが含まれています。

§ 1 つのユニットボックスに 28 個のサンプル調製カートリッジが入っています。

¶ 1 つのユニットボックスに 12 個の 8-Rod Covers が入っています。

**注釈：**設定によっては、支給されたフィルターチップの数がタッチスクリーンの表示数と異なる場合があります（バッチごとに使用される内部コントロールの数など）。

## 溶出量

選択溶出量

60  $\mu\text{L}$

初回溶出量

75  $\mu\text{L}$

溶出量はタッチスクリーンで選択します。使用可能な平均溶出量は 以上 60  $\mu\text{L}$  以上です。単一サンプルの最終溶出量は、それぞれの場合において、選択した量よりも最大 5  $\mu\text{L}$  少ない量（55  $\mu\text{L}$  など）になる場合があります。自動アッセイセットアップシステムを使用する場合は、移動前に溶出量が検証されないため、実際の溶出量を確認することをお勧めします。

## 溶出液の保存

**注釈：**溶出液の安定性はさまざまな要因に大きく依存し、特定のダウンストリームアプリケーションに関係します。これは、典型的なダウンストリームアプリケーションと組み合わせて QIASymphony DSP Circulating DNA Kit に対して確立されています。ラボで使用する特定のダウンストリームアプリケーションの使用説明書を参照したり、ワークフロー全体を検証して適切な保管条件を確立したりするのは、ユーザーの責任です。

ランが終了したらすぐに、「Eluate（溶出液）」ドロワーから溶出プレートを取り外すことをお勧めします。ランの完了に一晩かかると（分析時間を含めて最長 16 時間、推奨環境条件：温度 18～26℃、相対湿度 20～75%）、溶出プレートが QIASymphony SP に残る場合があります。温度と湿度によっては、溶出により結露や蒸着が発生することがあります。

サンプル調製後、溶出液は、2～8℃ では最長 1 カ月間、-20℃ または -80℃ では最長 2 カ月間、保存できます。凍結した溶出液は 3 回を超えて融解しないでください。

## サンプル材料の調製

**注釈：**サンプル安定性はさまざまな要因に大きく依存し、特定のダウンストリームアプリケーションに関係します。これは、典型的なダウンストリームアプリケーションと組み合わせて QIASymphony DSP Circulating DNA Kit に対して確立されています。ラボで使用する特定のダウンストリームアプリケーションの使用説明書を参照したり、ワークフロー全体を検証して適切な保管条件を確立したりするのは、ユーザーの責任です。

## ヒト血漿

ccfDNA プロファイル安定剤を含む血液採取チューブを使用する場合は、製造者の指示に従い、血漿の調製、保存、輸送、および取り扱い全般を行う必要があります。ccfDNA プロファイル安定剤を含まない血液採取チューブを使用する場合は、血漿の調製、保存、輸送、および取り扱い全般の指示に関して、供給者から専用の検査手順を入手できる場合は、これに従う必要があります。詳細については、*ISO 20186-3:2019 (E) 分子体外診断検査 - 静脈全血の検査前プロセスの仕様-パート 3：血漿から分離された循環無細胞 DNA* を参照してください。

血液採取チューブ製造者の指示とは関係なく、QIASymphony DSP Circulating DNA Kit および QIASymphony SP 機器を使用する血漿からの自動 ccfDNA 抽出については、ISO 20186-3：2019（E）に従って次の局面を考慮する必要があります。

ccfDNA プロファイル安定剤を含まない血液サンプルは、血漿調製に使用できます（EDTA 血液採取チューブなどに）。ccfDNA プロファイル安定剤を含むチューブから調製した血漿も使用できます（Streck の無細胞 DNA BCT などに）。

抗凝固剤として EDTA またはクエン酸を使用する場合は、採血後ただちに血漿分離を行うことをお勧めします。

一部のダウンストリームアプリケーションでは、小胞から核酸を取り除くか、最小限に抑える必要がある場合があります。そのような場合は、初回の血漿生成後に、高速遠心分離を室温（15～25℃）、16,000 x g で 10 分間行うことをお勧めします。

血漿は、採取と遠心分離の後、室温で最長 7 日間、2~8°C で 14 日間保管できます。最長 24 カ月保存する場合は、アリコートを-20°C または-80°C で凍結することをお勧めします。凍結した血漿は 3 回を超えて融解しないでください。凍結と融解を繰り返すと、タンパク質が変性および沈殿し、循環細胞フリーDNA 収量が減る可能性があります。血漿はウォーターバスに入れて 30°C で 30 分間加熱し、溶解することをお勧めします。サンプル中にクリオプレシピテートを目視で確認できる場合は、サンプルを聞きにロードする前に除去しなければなりません。クリオプレシピテートは、サンプルをボルテックスすると除去できます（サンプルを機器にロードする前に、サンプルの上に泡が見える場合は、泡が除去されていることを確認してください）。あるいは、遠心分離し、ペレットを乱さないように上清を二次サンプルチューブに移しても、クリオプレシピテートを除去できます（[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにある実験器具アリストを参照してください）。ただちに精製を始めてください。

## ヒト尿

尿採取後、ccfDNA は急速に劣化するため、尿サンプルをただちに安定化させることを強くお勧めします。典型的なダウストリームアプリケーションを QIASymphony DSP Circulating DNA Kit に使用し、尿の取り扱いと安定化に関する推奨事項を確立しました。キットは複数のダウストリームアプリケーションのフロントエンドとして使用されますが、ダウストリームアプリケーション開発の一環として、このようなワークフローでは尿の取扱いを確立する必要があります。あるいは、尿に市販の cfdNA プロファイル安定剤を使用する場合は、製造者の指示に従う必要があります。

## 安定化ヒト尿

安定化尿は室温（15~25°C）または 2~8°C で最長 7 日間保管できる場合があります。最長 24 カ月保存する場合は、アリコートを-20°C または-80°C で凍結することをお勧めします。

安定化尿サンプルに前処理は不要です。安定化後、尿サンプルを室温（15~25°C）、低速（1900 x g）で 10 分間遠心分離し、細胞を取り除いてから ccfDNA を抽出することをお勧めします。遠心分離後に上清に沈殿物が見られる場合は、サンプルをウォーターバスに入れて 25°C に温め、沈殿物を溶解してください。ラン開始前に、安定化尿サンプルを二次サンプルチューブに移し、このチューブをサンプルキャリアにロードします（[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにある実験器具リストを参照）。

## 「非安定化」ヒト尿

Buffer ATL が必要なプロトコールを始める前に、Buffer ATL に沈殿物があるかどうか確認してください。必要であれば、ウォーターバスに入れて 70°C で加熱し、ゆっくりとかき混ぜて溶解してください。Buffer ATL の表面から気泡を吸引してください。

**注釈：** Buffer ATL（4 x 50 ml、カタログ番号 939016）は QIASymphony DSP Circulating DNA Kit に同梱されていないため、別に注文する必要があります。

採取後の尿サンプルを、ただちに室温（15~25°C）、低速（1900 x g）で 10 分間遠心分離し、細胞を取り除くことをお勧めします。非安定化尿サンプルには前処理が必要です。

**重要：** 前処理を始める前には、サンプルの温度を室温（15~25°C）にしてください。

**重要：** 遠心分離と前処理は、尿サンプル採取後 4 時間以内に行う必要があります。

- 1500  $\mu\text{L}$  の尿 (circDNA\_1000\_DSP) と 150  $\mu\text{L}$  の Buffer ATL、2500  $\mu\text{L}$  の尿 (circDNA\_2000\_DSP) と 250  $\mu\text{L}$  の Buffer ATL、または 4500  $\mu\text{L}$  の尿 (circDNA\_4000\_DSP) と 450  $\mu\text{L}$  の Buffer ATL を混和します。
- サンプルを室温 (15~25°C) で 1 時間インキュベートします。
- サンプルに対して遠心分離を室温 (15~25°C)、1900 x g で 10 分間行います。
- 遠心分離後に上清に沈殿物が見られる場合は、サンプルをウォーターバスに入れて 25°C に温め、沈殿物を溶解します。
- 上清を二次サンプルチューブに移し、このチューブをサンプルキャリアにロードします ([www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにある験器具リストを参照)。

**重要：**非安定化尿では、ccfDNA の安定性と完全性は限定的です。尿サンプルの装置稼働時間を最短にするためには、1 回の QIASymphony ランで、できるだけ多くのサンプルを 1 つのバッチ (24 のサンプルを構成可) にロードすることをお勧めします。

### サンプルロード前の重要点

- サンプル中またはサンプル上に泡が発生しないようにしてください。
- 分析を開始する前に、サンプルの温度を室温 (15~25°C) にする必要があります。

### 妨害物質

血漿サンプルのガンマグロブリン濃度が高い (>30 g/l)、循環無細胞 DNA の回収量が減る可能性があります。



## 図記号

使用説明書やパッケージとラベルには、次の図記号が表示されます。

図記号	図記号の定義
	<N>回の反応に必要な試薬が含まれています。
	使用者
	この製品は、体外診断用医療機器に関する欧州規制 2017/746 の要件に準拠しています。
	体外診断用医療機器
	カタログ番号
	ロット番号
	資材番号（コンポーネントのラベル）
	コンポーネント
	含有物質
	番号
	グローバルトレードアイテム番号
Rn	R は使用説明書の改訂を示し、n は改訂番号を示す。
	温度制限
	製造者
	製品説明書を参照
	警告／注意
	プロテイナーゼ K
	ウェル番号（試薬カートリッジウェル）
	試薬カートリッジ
	アジ化ナトリウム
	エタノール
	独自のデバイス識別子

## 改訂履歴

改訂	説明
R1、2022年6月	バージョン 2、改訂 1 <ul style="list-style-type: none"><li>体外診断用医療機器規則への適合に伴い、バージョン 2 に更新</li><li>ISO 20186-3：2019 (E) 分子体外診断検査 – 静脈全血の検査前プロセスの仕様-パート3：血漿から循環遊離DNAを分離を考慮するために検体取扱いの文言を更新しました。</li></ul>
R2、2023年1月	バージョン 2、改訂 2 <ul style="list-style-type: none"><li>サンプル量 1 ml 用の BioScript を追加するための更新 (circDNA 1000DSP)</li><li>circDNA_2000 および circDNA_4000 を V3 に更新</li></ul>

ライセンスに関する最新情報や製品に固有の免責事項については、該当する QIAGEN®キットのハンドブックまたはユーザーマニュアルをご覧ください。QIAGEN Kit ハンドブックとユーザーマニュアルは、弊社ウェブサイト ([www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)) から入手できます。QIAGEN テクニカルサービスや最寄りの代理店でも入手可能です。

商標：QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (QIAGEN Group); Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). 本文書で使用している登録済みの名称、商標などは、具体的な表示がない場合でも法的保護の対象からは外れません。  
01/2023 HB-3034-S01-002 © 2022 QIAGEN、無断複写・転載を禁じます。