

# QIAsymphony® DSP Circulating DNA Kit - sarjan käyttöohjeet (suorituskykyominaisuudet)

**IVD**

In vitro -diagnostiseen käyttöön

Käytettäväksi yhdessä seuraavien kanssa:

	$\Sigma$	<b>REF</b>	versio
QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	192	937556	V2
QIAsymphony DSP Circulating DNA Maxi Kit (192)	192	937566	V1
QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit (96)	96	937555	V1



R2

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, SAKSA

Suorituskykyominaisuudet ovat saatavilla sähköisesti, ja ne voi ladata tuotesivun materiaalivälilehdestä osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Johdanto

QIASymphony DSP Circulating DNA -järjestelmä sisältää käyttövalmiin in vitro -järjestelmän kiertävän solunulkoisen DNA:n (circulating cell-free DNA, ccfDNA) kvalitatiiviseen puhdistamiseen ihmisen plasmasta ja virtsasta.

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarja on tarkoitettu käytettäväksi vain yhdessä QIASymphony SP -laitteen kanssa.

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjassa on reagenssit täysin automaattiseen ja samanaikaiseen ccfDNA:n puhdistukseen monentyyppisestä ihmisen plasmasta (sekä plasmasta, jossa on ccfDNA-profiilin stabilointiaineita, kuten PreAnalytiX-yhtiön PAXgene® Blood ccfDNA Tube -putkissa, Streck®-yhtiön Cell-Free DNA BCT® -putkissa, että plasmasta, jossa ei ole ccfDNA-profiilin stabilointiaineita, kuten EDTA-putkissa) ja ihmisen virtsasta (ccfDNA-profiilin stabilointiaineilla tai ilman). Kuitenkaan kaikkien verinäytteenottoputkien suorituskykyominaisuuksia ei ole määritetty, ja käyttäjän täytyy validoida ne.

Puhdistettu ccfDNA sopii monenlaisiin myöhempään sovelluksiin, kuten PCR-kemiaan, fluoresenssipohjaisiin kvantifiointimäärittelyyn tai NGS-menetelmiin.

QIASymphony SP tekee kaikki puhdistuksen toimenpidevaiheet. Enintään 96 näytettä 24 näytteen erissä käsitellään yhdellä ajolla. Virtsanäytteet saattavat edellyttää manuaalista näytteiden esikäsittelyä.

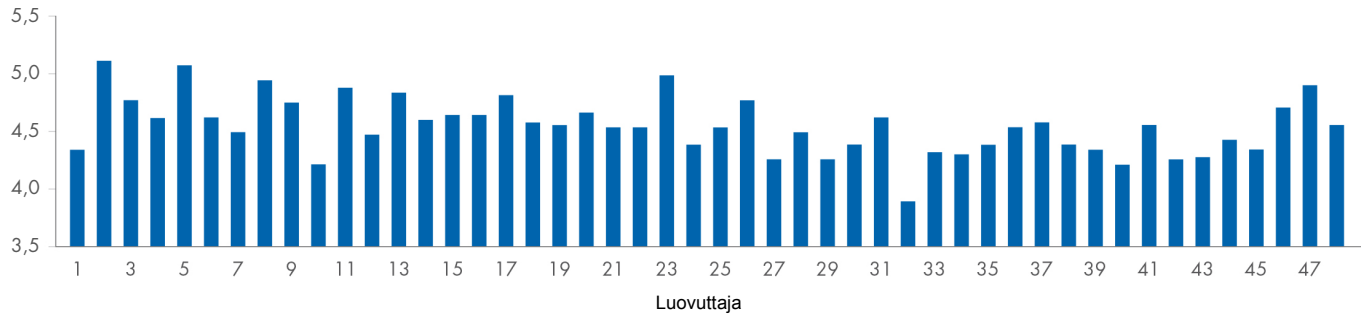
Huomautus: Suorituskykyominaisuudet riippuvat useista tekijöistä ja liittyvät suunniteltuun myöhempään sovellukseen. QS DSP Circulating DNA Kit -sarjan stabiilius on määritetty esimerkkinä käytettyjen myöhempien sovellusten yhteydessä. Nukleiinihappojen biologisesta näytteestä eristämisen menetelmiä käytetään kuitenkin alkuvaiheena monissa myöhemmissä sovelluksissa, ja suorituskykyparametrit, kuten ristikontaminaatio ja ajon tarkkuus, on määritettävä tällaisille työkuluille osana myöhempää sovellusta. Siksi on käyttäjän vastuulla validoida koko työnkulku ja määrittää sopivat suorituskykyparametrit.

## Perussuorituskyky

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan perussuorituskyky arvioitiin käyttämällä 48 yksittäisen luovuttajan näytteitä ccfDNA:n eristämiseen 4 ml:sta Streck-plasmaa sekä 4 ml:sta stabiloitua virtsaa. ccfDNA-tuotos määritettiin talonsisäisellä real-time PCR -määrityksellä 18S-ribosomaalisesta RNA:n koodaussekvenssistä.

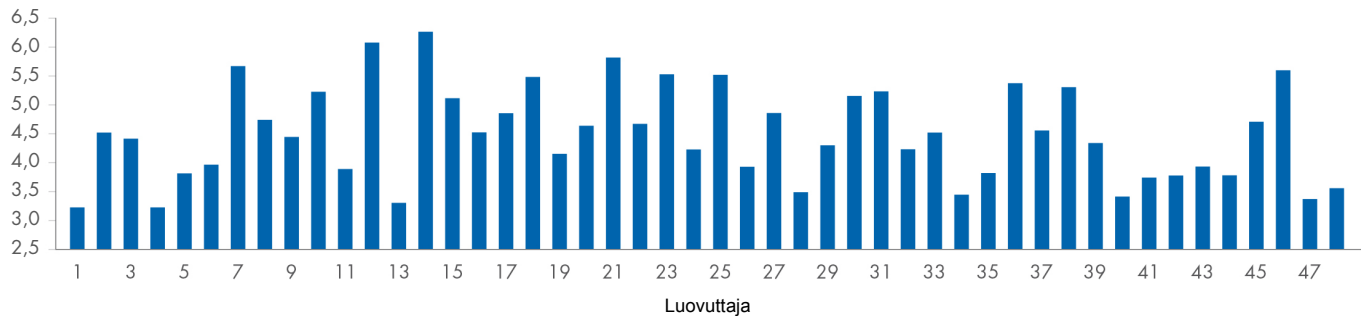
Tuotosten ero (log 10 kopiota/ml) Kuva 1 (4 ml plasmaa) ja Kuva 2 (4 ml virtsaa) kuvastaa ccfDNA:n vahvasti luovuttajakohtaisia pitoisuuksia, jotka tyypillisesti havaitaan samasta näytemäärästä kutakin näytemateriaalia.

Log 10 kopiota/ml



**Kuva 1. ccfDNA-tuotos 48 yksittäisen luovuttajan plasmasta.** Verinäytteet otettiin 48 yksittäiseltä luovuttajalta Cell-Free DNA BCT -putkiin (Streck). ccfDNA eristettiin 4 ml:n plasmanäytteistä QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjalla. ccfDNA-tuotos kvantifioitiin talonsisäisellä real-time PCR -määrityksellä 18S-koodaussekvenssistä. Tulokset laskettiin kohdekopioina yhtä syötettyä plasmamillilitraa kohden.

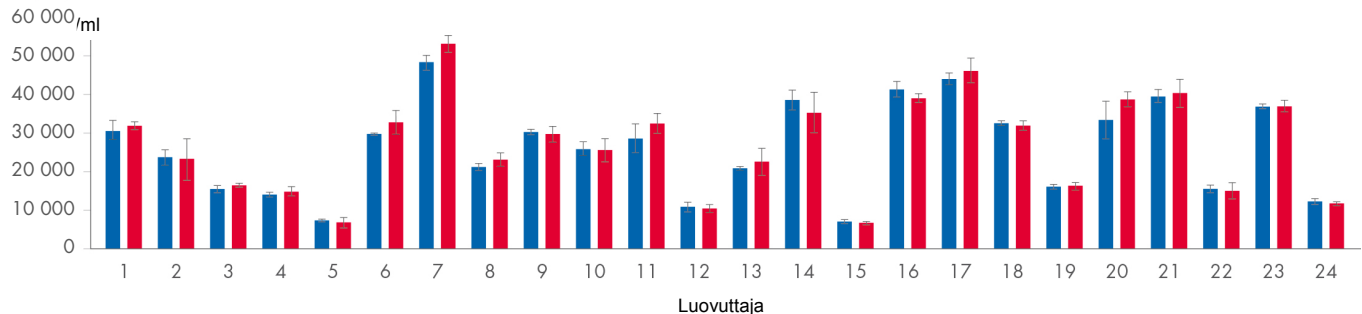
Log 10 kopiota/ml



**Kuva 2. ccfDNA-tuotos 48 yksittäisen luovuttajan virtsasta.** 48 yksittäiseltä luovuttajalta kerätty virtsa stabiloitiin Cell-Free DNA Urine Preserve® -aineella (Streck). ccfDNA eristettiin 4 ml:n virtsanäytteistä QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjalla. ccfDNA-tuotos kvantifioitiin talonsisäisellä real-time PCR -määrityksellä 18S-koodaussekvenssistä. Tulokset laskettiin kohdekopioina yhtä syötettyä virtsamillilitraa kohden.

Lisäksi QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan perussuorituskyky arvioitiin verrattuna käsin tehtävään ccfDNA-eristykseen, QIAamp DSP Circulating NA Kit -sarjaan, tuotenro 61504. Vertailua varten 24 yksittäisen luovuttajan näytteiden PAXgene® Blood ccfDNA -putkissa (CE-IVD) säilytetystä plasmasta tuotettiin 4 ml:n tilavuus ccfDNA-eristystä varten ja ccfDNA-eristystä saatiin molemmilla ccfDNA-eristyssarjoilla 75 µl. ccfDNA-tuotos määritettiin talonsisäisellä real-time PCR -määrityksellä 18S-ribosomaalisesta RNA:n koodaussekvenssistä. Ero tuotoissa (kopioita/ml) on kuvattu Kuva 3 ja se noudattaa ccfDNA:n tavallisesti plasmassa esiintyvää luovuttajakohtaista pitoisuusriippuvuutta.

Copies/ml



● QIASymphony DSP Circulating DNA Kit ● QIAamp DSP Circulating NA Kit -sarja

**Kuva 3. QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan ccfDNA-eristyskyky vastaa QIAamp DSP Circulating NA Kit -sarjan suorituskykyä.** 24 yksittäiseltä luovuttajalta kerätty plasma stabiloitiin käyttämällä PAXgene Blood ccfDNA -putkea. ccfDNA eristettiin 4 ml:sta plasmasta QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjalla ja QIAamp DSP Circulating NA Kit -sarjalla. ccfDNA-tuotos kvantifioitiin talonsisäisellä real-time PCR -määrityksellä 18S-koodaussekvenssistä. Tulokset laskettiin kohdekopioina yhtä syötettyä plasmamillilitraa kohden.

Automaattisen ja käsin tehdyn ccfDNA-eristysarjan suorituskyvyt vastasivat toisiaan mitattuna laskettujen kopioiden määrästä millilitraa kohti. QIASymphony DSP Circulating DNA Kit-sarjan ja QIAamp DSP Circulating NA Kit -sarjan geometrinen keskiarvojen suhde on esitetty taulukossa 1 (QIASymphony DSP Circulating DNA Kit on vertailusarja).

Taulukko 1. Geometrisen keskiarvon suhde: QIAamp DSP Circulating NA Kit / QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (N= 213)

Parametri	Arvo
Geometrisen keskiarvon arvioitu suhde lasketussa pitoisuudessa (kopiota/ml)	1,074
Alempi 95 %:n luottamusraja	1,048
Ylempi 95 %:n luottamusraja	1,100

## Ajon tarkkuus

Variatiokertoimet (Coefficient of Variation, CV) määritettiin ihmisen ccfDNA:n EDTA-plasmasta eristämistä varten. Tarkkuusanalyysia varten ccfDNA kvantifioitiin talonsisäisellä real-time PCR -määrityksellä 18S-ribosomaalisesta koodaussekvenssistä. QIASymphony-ajoja tehtiin yhteensä 10, kukin 4 erässä (8 replikaattia erää kohden). Tarkkuustiedot esitetään Taulukko 2.

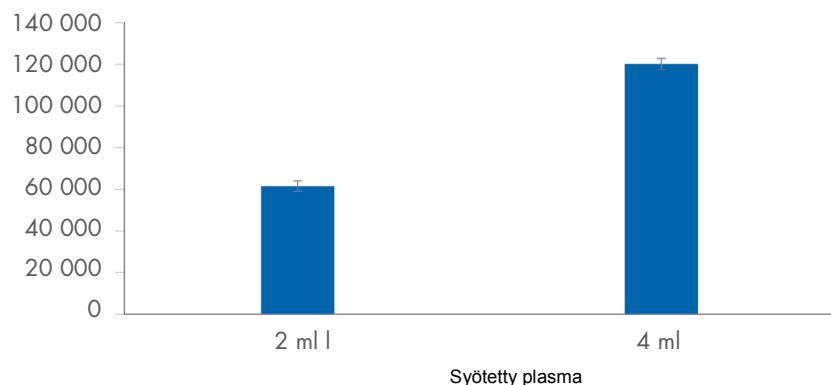
Taulukko 2. Tarkkuusarvioiden analyysi

Tarkkuus	CV (%)
Erän sisällä	11,67
Toistettavuus	13,14
Osittainen tarkkuus	13,14
Kokonaistarkkuus	14,12

## 2 ja 4 ml:n protokollien yhtäläinen suorituskyky

2 ja 4 ml:n näytemäärän protokollien yhtäläinen suorituskyky arvioitiin QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjalla käyttämällä endogeenistä ccfDNA:ta, joka eristettiin ihmisen EDTA-plasmapoolista. Itsenäisiä QIASymphony-ajoja tehtiin yhteensä 8, kukin 4 erässä, 8 replikaattia erää kohden. QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan toimenpiteen lineaarinen alue on määritetty 18S-koodaussekvenssille talonsisäisellä real-time PCR -määrityksellä (Kuva 4). 2 ja 4 ml:n protokollien eron suhde esitetään Taulukko 3 (vertailuprotokollassa käytetään 4 ml:n näytemäärää).

Kopioiden kokonaismäärä



Kuva 4. Yhtäläinen suorituskyky 2 ja 4 ml:n näytemäärän protokollilla. ccfDNA-protokollan lineaarinen alue määritettiin käyttämällä 2 ja 4 ml:n protokollia. ccfDNA-tuotos kvantifioitiin talonsisäisellä real-time PCR -määrityksellä 18S-koodaussekvenssistä. Tulokset laskettiin protokollakohtaisesti kopioiden kokonaismääränä.

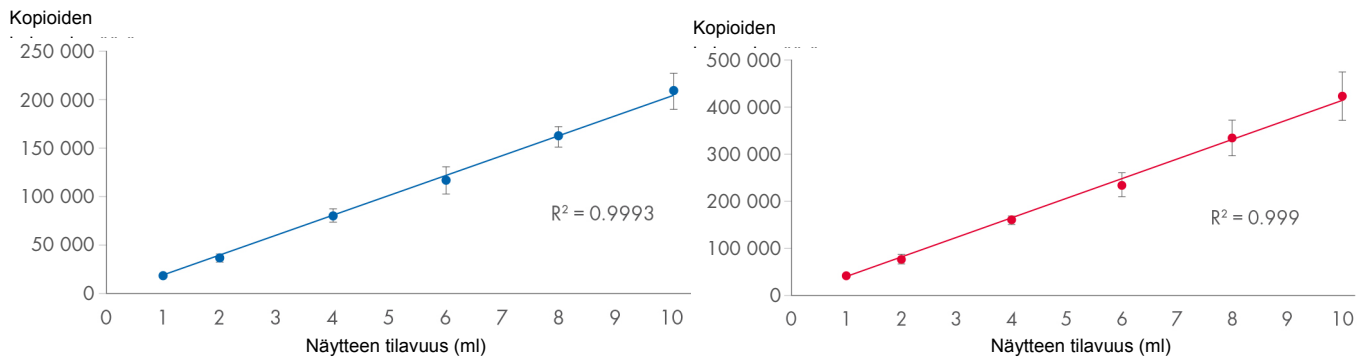
Taulukko 3. Ero 2 ja 4 ml:n protokollien välillä (N = 256)

Parametri	Arvo
Geometrisen keskiarvon arvioitu suhde lasketussa pitoisuudessa (kopiota/ml)	1,01
Alempi 95 %:n luottamusraja	0,92
Ylempi 95 %:n luottamusraja	1,11
Kokonaistarkkuus	14,12

2 ja 4 ml:n näytemäärän protokollien suorituskyky on yhtäläinen mitattuna lasketujen kopioiden määrästä millilitraa kohden.

## ccfDNA-eristyksen lineaarinen suorituskyky 1–10 ml:n näytetilavuudesta

1–10 ml:n näytemäärän protokollien yhtäläinen suorituskyky arvioitiin QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjalla käyttämällä endogeenistä ccfDNA:ta, joka eristettiin ihmisen plasma- ja virtsapoolista. Plasma tuotettiin Streck Cell-Free DNA BCT® -putkella, ja virtsa stabiloitiin käyttämällä Streck® Urine Preservative -ainetta. Plasma- ja virtsapoolit muodostettiin vähintään 10 luovuttajalta kerätystä stabiloidusta plasmasta ja virtsasta ja säilytettiin –20 °C:ssa käyttöön asti. CcfDNA eristettiin 1, 2, 4, 6, 8 ja 10 ml:n tilavuudesta käyttämällä QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjaa ja 1–10 ml:n näytteille tarkoitettuja circDNA-protokollia. Jokaisesta tilavuudesta eristettiin 12 replikaattia. QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan toimenpiteen lineaarinen alue on määritetty 18S-koodaussekvenssille talonsisäisellä real-time PCR -määrityksellä (Kuva 5).



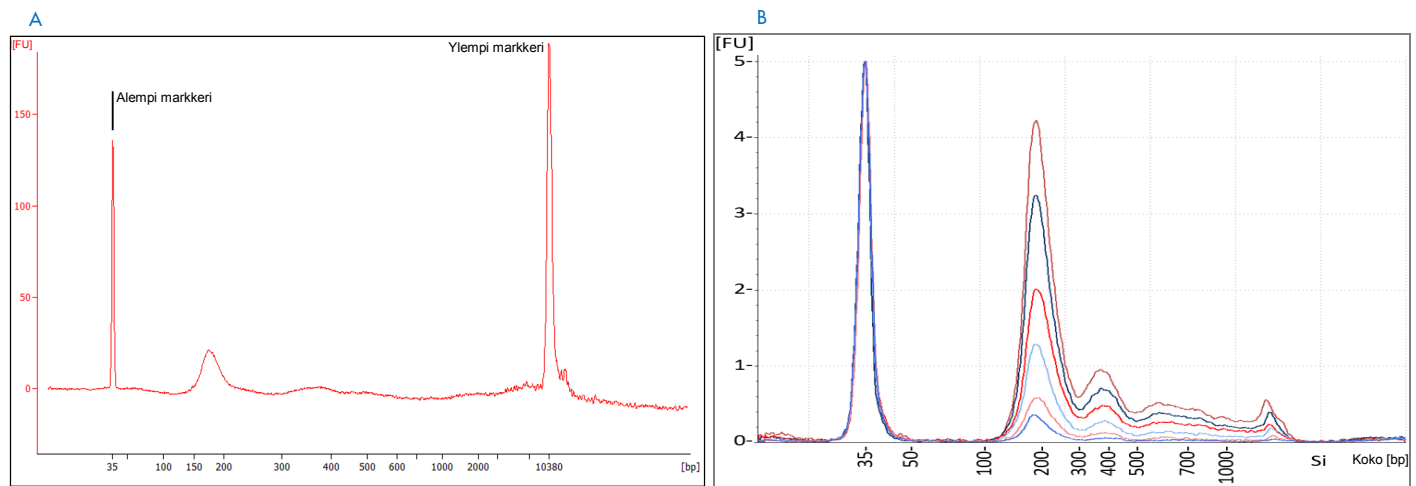
Kuva 5. ccfDNA-eristyksen lineaarinen suorituskyky 1–10 ml:n näytetilavuudesta. ccfDNA-protokollan lineaarinen alue määritettiin käyttämällä 1, 2, 4, 6 ja 10 ml:n protokollia. CcfDNA eristettiin stabiloidusta plasmasta (vasen kuva, siniset pisteet) ja stabiloidusta virtsasta (oikea kuva, punaiset pisteet). ccfDNA-tuotos kvantifioitiin talonsisäisellä real-time PCR -määrityksellä 18S-koodaussekvenssistä. Tulokset laskettiin protokollakohtaisesti kopioiden kokonaismääränä.

## Kokojakauma

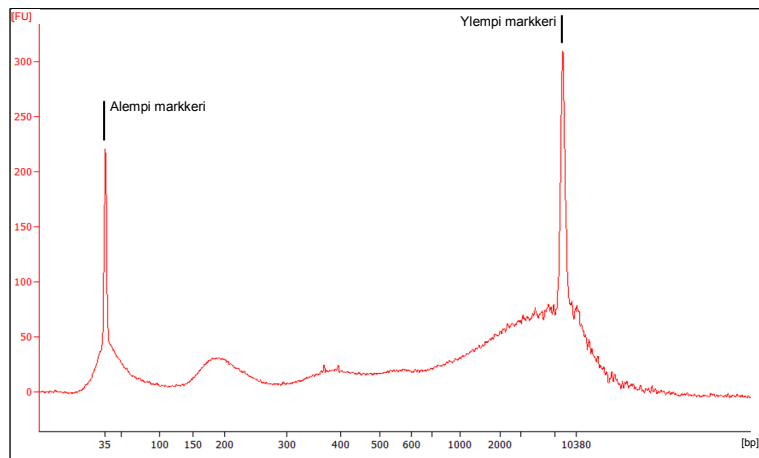
Näytteen ulostulon kokojakauma arvioitiin eristämällä ccfDNA 4 ml:sta syötettyä näytettä QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjalla, eluomalla se 75 µl:aan ja tekemällä sitten kokoanalyysi 1 µl:lle eluaattia Agilent® 2100 Bioanalyzer -laitteessa ja Agilent High Sensitivity DNA Chip -sirua käyttämällä. Yhteensä 5 toisistaan riippumatonta toistoa suoritettiin. Plasman edustava DNA-profiili esitetään Kuva 6A ja virtsan Kuva 7.

Kuva 6A plasman elektroferogrammissa näkyy usein havaittu huippu noin 165 bp:n kohdalla, joka vaihtelee välillä 145–196 bp mikä on nukleosomissa histoniin liittyvän DNA:n pituusalue. Kuva 7 virtsan elektroferogrammista näkyy, että vallitseva, noin 160 bp:n huippu on leveämpi ja vaihtelee suurin piirtein välillä 145–250 bp. Lisäksi virtsalla on havaittavissa toinen huippu noin 20–100 bp:n kohdalla (alemman markkerin huipun tasolla), mikä viittaa suuremman fragmentaation ccfDNA-fraktioon. Kuva 7 näkyy myös pitkien, yli 2 kb:n DNA-fragmenttien suuri määrä. Tällaisten genomisten DNA-fragmenttien runsautta havaitaan usein virtsanäytteissä todennäköisesti siksi, että genomista DNA:ta vapautuu virtsassa olevista soluista.

Histoniin sitoutuneen DNA:n (mononukleosomi) noin 165 bp:n piikin lisäksi cfdNA:n eristäminen suurista näytemääristä paljastaa lisäksi huiput multinukleosomille noin 350 bp:n ja > 500 bp:n kohdilla. Kuva 6B). Tätä varten PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkissa tuotetusta 1–10 ml:n plasmasta eristettiin ccfDNA QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjalla, joka eluoiitiin 75 µl:aan, minkä jälkeen 1 µl:lle eluaattia tehtiin kokoanalyysi Agilent® Cell-free DNA Screen Tape -analyysillä.



**Kuva 6. Plasmasta erotetun ccfDNA:n kokojakauma (Bioanalyzer-profiili).** (A) CcfDNA eristettiin 4 ml:sta EDTA-plasmaa QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjalla; 1 µl eluaattia testattiin Agilent High Sensitivity DNA Chip -analyysillä. x-akseli: emäsparin (Base Pair, bp) koko; y-akseli: fluoresenssiyksiköt (Fluorescence Unit, FU) (B) CcfDNA eristettiin 1 ml:sta, 2 ml:sta, 4 ml:sta, 6 ml:sta, 8 ml:sta ja 10 ml:sta plasmaa, joka oli tuotettu PAXgene® Blood ccfDNA -putkissa käyttämällä QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjaa, 1 µl:lle eluaattia tehtiin Agilent Cell-free DNA Screen Tape -analyysi. Kuusi eriväristä kokoprofiilia havainnollistavat ccfDNA:n kokojakauman havaitsemisen herkkyyden lisääntymistä eristämiseen käytetyn plasman syöttötilavuuden 1–10 ml mukaisesti. x-akseli: emäsparin (Base Pair, bp) koko; y-akseli: fluoresenssiyksiköt (Fluorescence Unit, FU), huippu 35 bp:ssä: alempi markkeri.

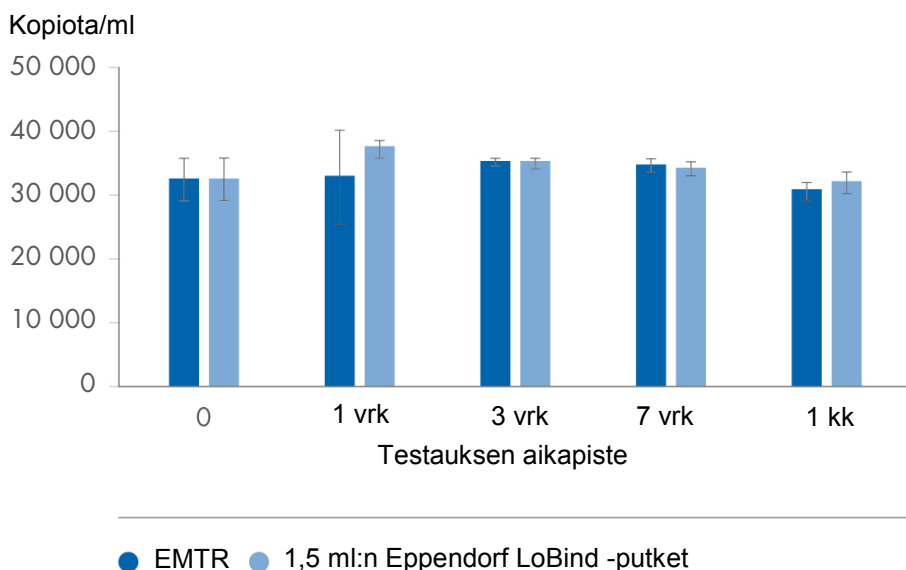


**Kuva 7. Virtsaista erotetun ccfDNA:n kokojakauma (Bioanalyzer-profiili).** ccfDNA eristettiin 4 ml:sta virtsaa QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjalla; 1 µl eluaattia testattiin Agilent High Sensitivity DNA Chip -analyysillä. x-akseli: emäsparin (Base Pair, bp) koko; y-akseli: fluoresenssiyksiköt (Fluorescence Unit, FU)

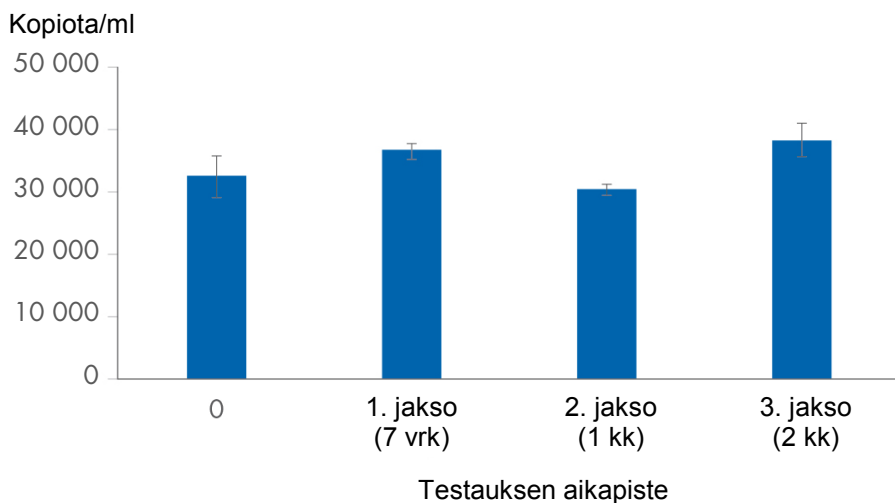
## Eluaatin stabiilius

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan eluaatin stabiilius arvioitiin käyttämällä eristettyä ccfDNA:ta ihmisen EDTA-plasmapoolista. Eluaatteja säilytettiin kahdessa (2) eri eluotielinemuodossa: QIAGEN® EMTR -putkissa (Elution Microtubes CL 96; tuotenro 19588) ja 1,5 ml:n Eppendorf® LoBind® Snap Cap Safe-Lock -putkissa. Eluaatit analysoitiin 8 kappaleen replikaatteina. DNA:n stabiilius eluaateissa määritettiin talonsisäisellä real-time PCR -määrityksellä 18S-ribosomaalisesta RNA:n koodaussekvenssistä.

Eluaatin stabiiliuteen 2–8 °C:ssa ei vaikuttanut säilytysjakson kesto aina yhteen vuokauteen saakka eikä säilytysmuoto (Kuva 8). DNA:n stabiiliuteen LoBind-putkissa ei vaikuttanut säilytys –15...–30 °C:n lämpötilassa, kun tehtiin 3 pakastus-sulatusjaksoa 7 vuorokauden, yhden kuukauden ja kahden kuukauden jälkeen (Kuva 9).



Kuva 8. ccfDNA:n stabiilius 2–8 °C:ssa säilytetyissä eluaateissa, 2 putken muotoa. ccfDNA eristettiin EDTA-plasmasta QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjalla ja säilytettiin 2–8 °C:ssa eri aikapisteisiin testausta varten. ccfDNA-tuotos kvantifioitiin talonsisäisellä real-time PCR -määrityksellä 18S-koodaussekvenssistä. Tulokset laskettiin kohdekopioina yhtä syötettyä plasmamillilitraa kohden.



Kuva 9. ccfDNA:n stabiilius –15...–30 °C:ssa säilytetyissä eluaateissa, 3 pakastus-sulatusjaksoa. ccfDNA eristettiin EDTA-plasmasta QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjalla ja säilytettiin –15...–30 °C:ssa 1,5 ml:n Eppendorf LoBind -putkissa. ccfDNA-tuotos määritettiin kolmessa (3) testauksen aikapisteessä käyttämällä samaa eluaattia kolmessa (3) pakastus-sulatusjaksossa. ccfDNA-tuotos kvantifioitiin talonsisäisellä real-time PCR -määrityksellä 18S-koodaussekvenssistä. Tulokset laskettiin kohdekopioina yhtä syötettyä plasmamillilitraa kohden.

## Häiritsevät aineet

Ihmisen plasmaan ja virtsaan lisättiin mahdollisesti häiritseviä aineita (katso Taulukko 4), jotta voitiin testata niiden vaikutus QS DSP Circulating DNA Kit -sarjan ccfDNA:n eristyksen suorituskykyyn ja myöhempään yhteensopivuuteen esimerkkeinä käytettyjen myöhempien määritysten kanssa. Eluaatit analysoitiin talonsisäisellä real-time PCR -määrityksellä 18S-koodaussekvenssissä ja Qubit® Fluorometer -laitteella käyttämällä High Sensitivity dsDNA -määritystä.

Taulukko 4. Mahdollisten häiritsevien aineiden testipitoisuudet

Häiritsevät aineet	Plasma	Virtsa
Bilirubiini	200 mg/litra*	200 mg/litra*
Hemoglobiini	2 g/litra <sup>†</sup>	–
BSA ja gammaglobuliini	Korkeintaan 120 g/litra*	1 g/litra <sup>†</sup>
Triglyseridit	5 g/litra*	–
Glukoosi	10 g/litra*	10 g/litra*
Veri	–	1 % <sup>†</sup>
pH	–	pH 4 ja pH 9 <sup>†</sup>

\* CLSI EP7-A2 Vol. 25 No. 27

<sup>†</sup> FDA-ohjeistusluonnos (11.5.2011)

Mikään Taulukko 4 luetelluista aineista ei ollut häiritsevä, lukuun ottamatta seuraavia poikkeuksia: plasmanäytteet, joissa on suuri gammaglobuliinipitoisuus (> 30 g/litra), sillä niiden kohdalla kiertävän solunulkoisen DNA:n talteenotto voi olla vähäisempää.

Huomautus: Testaus tehtiin käyttämällä esimerkinomaisia myöhempiä käyttösovelluksia eristettyjen nukleiinihappojen laadun arvioimiseen. Myöhemmillä sovelluksilla voi kuitenkin olla eroavat puhdistusvaatimukset (mahdollisten häiritsevien aineiden osalta), joten olennaisten aineiden tunnistus ja testaus on määritettävä myös osana myöhempää sovellusta työkuluissa, joissa käytetään QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjaa.

## Ristikontaminaatio

QIASymphony DSP Circulating DNA -järjestelmän ristikontaminaation riski analysoitiin 1 ml:n, 4 ml:n ja 10 ml:n näytetilavuuksia käyttävillä protokollilla, jotka sisältävät yhden, kaksi ja viisi erillistä näyteesiirtovaihetta jokaista 1 ml:n tai 2 ml:n tilavuutta kohti. Kolme 96 näytteen ajoa (1 ml ja 4 ml) ja kuusi 48 näytteen ajoa (10 ml) suoritettiin QIASymphony SP -laitteessa muutellen ruudukon koostumusta (positiiviset ja negatiiviset näytteet vuorotellen). Mallijärjestelmän näytemateriaaleina käytettiin 1 ml:n ja 4 ml:n näytetilavuutta naisen plasmaa (negatiivinen näyte) ja naisen plasmaa, johon oli lisätty pilkottua miehen gDNA:ta pitoisuutena 1,0E+05 SRY1-geenin kopiota / millilitra plasmaa (positiivinen näyte). Mallijärjestelmän näytemateriaaleina käytettiin 10 ml:n näytteen osalta plasmaa (negatiivinen näyte) ja plasmaa, johon oli lisätty 1 000 bd:n kohdasta GFP-geenin DNA-fragmentti pitoisuutena 1,0E+05 kopiota / millilitra plasmaa (positiivinen näyte).

Negatiivisten plasmanäytteiden mahdollinen kontaminaatio eristysajojen aikana arvioitiin seuraavalla eluaattien analyysillä, jossa käytettiin Y-kromosomille spesifisen SRY1-geenin real-time PCR -määritystä (1 ml:n ja 4 ml:n protokollat) ja GFP-spesifistä sekvenssiä (10 ml:n protokolla).

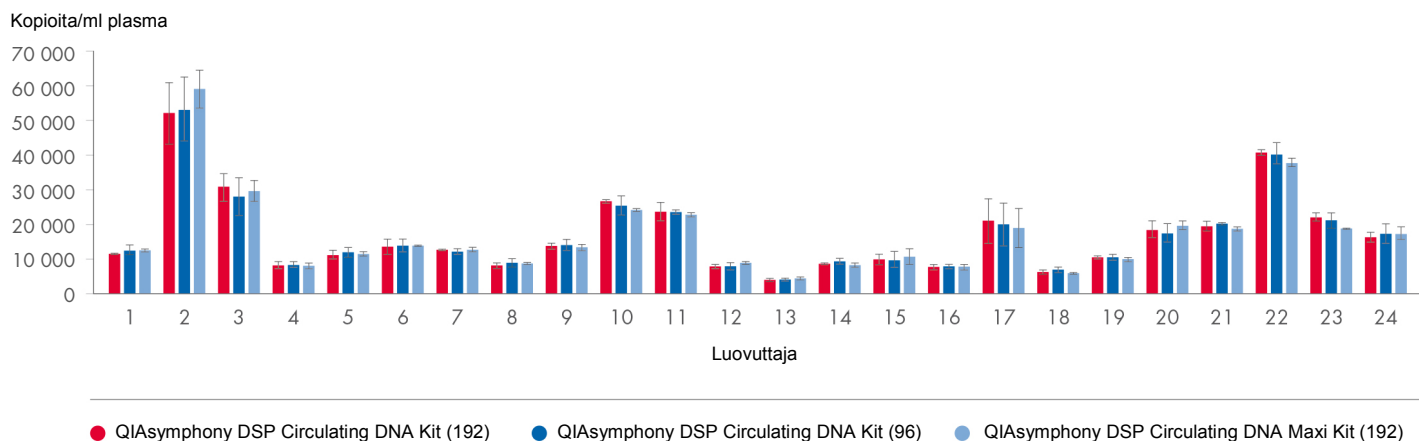
Näytteiden välisestä, erien välisestä tai ajojen välisestä siirtymästä johtuvaa ristikontaminaatiota ei havaittu.



## Kolmen QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan ccfDNA-eristykset vastaavat toisiaan

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarja (192), tuotenro 937556, QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarja (96), tuotenro 937555 ja QIASymphony DSP Circulating DNA Maxi Kit -sarja (192) tuotenro 937566 arvioitiin käyttämällä 24:n yksittäisen luovuttajan näytteitä ccfDNA-eristämiseen 2 ml:sta tai 6 ml:sta Streck-plasmaa. ccfDNA-tuotos määritettiin talonsisäisellä real-time PCR -määrityksellä 18S-ribosomaalisesta RNA:n koodaussekvenssistä (Kuva 10).

Ero tuotoissa (kopioita/ml) kuvasti ccfDNA:lle tyypillistä vahvaa luovuttajakohtaista pitoisuusriippuvuutta samoissa plasmatilavuuksissa.



**Kuva 10. Kolmen QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan ccfDNA-eristysten tehot vastaavat toisiaan.** Verinäytteet otettiin 24 yksittäiseltä luovuttajalta Cell-Free DNA BCT -putkiin (Streck). CcfDNA uutettiin 2 ml:sta plasmaa käyttämällä QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjaa (192) ja QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjaa (96) ja 6 ml:sta plasmaa käyttämällä QIASymphony DSP Circulating DNA Maxi Kit -sarjaa (192). Jokaisen sarjan ja luovuttajan kohdalla ccfDNA eristettiin kolmesta replikaatista, jolloin saatiin yhteensä yhdeksän datapistettä luovuttajaa kohti. ccfDNA-tuotos kvantifioitiin talonsisäisellä real-time PCR -määrityksellä 18S-koodaussekvenssistä. Tulokset laskettiin kohdekopioina yhtä syötettyä plasmamillilitraa kohden.

Kolmen QIASymphony DSP Circulating DNA -sovelluksen suorituskyvyt todettiin toisiaan vastaaviksi mitattuna laskettuina kopioina millilitraa kohti. QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan (192), QIASymphony DSP Circulating DNA Maxi Kit -sarjan (192) ja QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan (96) erojen suhde on kuvattu Taulukko 5.

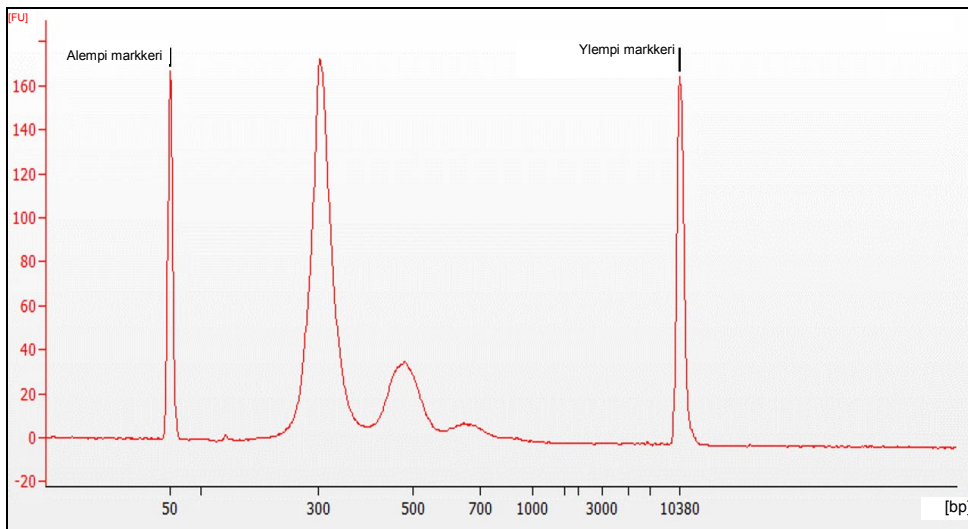
**Taulukko 5. Takaisinmuunnettu ero ja kaksipuolinen 95 %:n luottamusväli geometrisen keskiarvon suhteen saamiseksi ( N= 216)**

Laskettu ero	Arvio	Alempi kaksipuolisen 95 %:n luottamusvälin raja	Ylempi kaksipuolisen 95 %:n luottamusvälin raja
QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (96) / QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	1,012	0,969	1,057
QIASymphony DSP Circulating DNA Maxi Kit (192) / QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	1,002	0,960	1,047
QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (96) / QIASymphony DSP Circulating DNA Maxi Kit (192)	1,009	0,964	1,056

## Yhteensopivuus erilaisten myöhempien sovellusten kanssa

QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan kehityksessä käytettiin esimerkkeinä myöhempiä sovelluksia, joilla osoitettiin eristettyjen nukleiinihappojen yhteensopivuus monenlaisten myöhempien sovellustekniikoiden kanssa, mukaan lukien real-time PCR (katso kuvat 1–5 ja kuvat 8–10), Qubit Fluorometer (proteiinimääritys ja suuren herkkyyden dsDNA-määritys), kirjasto (katso Kuva 11) ja Next Generation Sequencing (NGS).

Elektroferogrammikaavio Kuva 11 on esimerkki onnistuneesta adapteriligaatiosta ja sitä seuraavasta ccfDNA:n monistamisesta. Nukleosomaalisen ccfDNA:n vallitsevan 300 bp:n huipun (noin 165 plus noin 70 bp kullekin adapterille) vieressä näkyy myös dinukleosomaalinen huippu noin 470 bp:n kohdalla.



Kuva 11. QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjalla eristetty ccfDNA:n DNA-kirjasto (yksittäinen luovuttaja). ccfDNA eristettiin Streck-plasmasta 4 ml:n protokollalla, minkä jälkeen 35 µl:n eluaatti siirrettiin NEBNext® Ultra DNA Library Prep Kit -sarjaan (Biolabs). Monistuksen ja AMPure XP -puhdistuksen jälkeen 1 µl eluaattia analysoidiin Agilent 7500 DNA Kit -sarjalla.

## Symbolit

Käyttöohjeessa tai pakkauksessa ja etiketeissä käytetään seuraavia symboleita:

Symboli	Selitys
	Tämä tuote täyttää in vitro -diagnostisia lääkinnällisiä laitteita koskevan eurooppalaisen säännöksen 2017/746 vaatimukset.
	In vitro -diagnostinen lääkinnällinen laite
	Tuotenumero
Rn	R tarkoittaa käyttöohjeiden versiota, ja n on versionumero
	Valmistaja

## Muutoshistoria

Versio	Kuvaus
R1, heinäkuu 2022	<p>Versio 2, versio 1</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Päivitys versioon 2 IVDR-noudatusta varten</li><li>• Lisätty kohdat Häiritsevät aineet, Ristikontaminaatio ja Yhteensopivuus erilaisten myöhempien sovellusten kanssa</li></ul>
R2, heinäkuu 2024	<ul style="list-style-type: none"><li>• Asiakirjan versio poistettu versiohistoriasta</li><li>• Päivityksessä lisätty QIASymphony DSP Circulating DNA Maxi Kit -sarjan (192) ja QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan (96) suorituskykytiedot käytettäessä BioScriptsiä näytetilavuuksille 6 ml, 8 ml ja 10 ml.</li><li>• Lisätty suorituskykytiedot BioScriptin 1 ml:n näytetilavuudelle</li></ul>

Voimassa olevat lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet ovat saatavilla tuotekohtaisissa QIAGEN-sarjojen käyttöoppaissa tai käsikirjoissa. QIAGEN-sarjojen käsikirjat ja käyttöoppaat ovat saatavilla osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) tai ne voi tilata QIAGENin teknisestä palvelusta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

Tavaramerkit: QIAGEN®, Sample to Insight® (QIAGEN-konserni); Cell-Free DNA Urine Preserve®, Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck); Agilent®, Bioanalyzer® (Agilent Technologies, Inc.); Eppendorf®, LoBind® (Eppendorf AG); NEBNext® (New England Biolabs, Inc.); Qubit® (Thermo Fisher Scientific tai sen tytäryhtiöt); PAXgene® Blood ccfDNA Tube, PreAnalytiX;. Tässä asiakirjassa käytettyjä rekisteröityjä nimiä, tavaramerkkejä jne., vaikka niitä ei ole erityisesti merkitty sellaisiksi, ei pidetä lain suojaamattomina.

HB-3034-D01-002 © 2024 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.