

QIAsymphony® DSP DNA Mini Kit 사용 지침(프로토콜 시트)

Tissue_LC_200_V7_DSP 및 Tissue_HC_200_V7_DSP 프로토콜

버전 2

IVD

체외 진단용

QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (192)용



REF

937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 독일

R1

프로토콜 시트는 전자 문서로 제공되며 www.qiagen.com의 제품 페이지 Resources(리소스) 탭에서 확인할 수 있습니다.

일반 정보

QIASymphony DSP DNA Kit는 체외 진단용입니다.

이러한 프로토콜은 QIASymphony SP 및 QIASymphony DSP DNA Mini Kit를 사용하여 조직 및 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 조직에서 전체 DNA를 정제하기 위한 것입니다.

검체 유형에 따라 저함량(LC) 또는 고함량(HC) 프로토콜을 사용하는 것이 좋습니다. 조직을 고함량 프로토콜로 처리하면 높은 DNA 수율을 얻을 수 있지만 높은 DNA 농도가 필요한 경우에는 저함량 프로토콜과 적은 용출량(50 µl)을 사용하면 됩니다. FFPE 조직의 경우 저함량 프로토콜을 사용하는 것이 좋습니다.

저함량 프로토콜

키트	QIASymphony DSP DNA Mini Kit(카탈로그 번호 937236)
검체 물질	FFPE 조직 및 조직* 한 번의 준비에 각각 두께 10 µm 이하의 FFPE 조직 절편 4개 또는 두께 5 µm 이하 및 표면적 250 mm ² 이하의 절편 8개까지 결합할 수 있습니다.
프로토콜 이름	Tissue_LC_200_V7_DSP
기본 분석 대조물질 세트	ACS_Tissue_LC_200_V7_DSP
용출량	50 µl, 100 µl, 200 µl 또는 400 µl
필요한 소프트웨어 버전	버전 4.0 이상
IVD 사용에 필요한 소프트웨어 구성	기본 프로필 1

* 조직 검체에 대한 정보는 고함량 프로토콜을 참고하십시오.

고함량 프로토콜

키트	QIASymphony DSP DNA Mini Kit(카탈로그 번호 937236)
검체 물질	조직 예상 수율에 대한 정보가 제공되지 않는 경우 검체 물질 25 mg을 사용하여 시작하는 것이 좋습니다. 산출된 수율에 따라 이후 준비에서 검체 크기를 늘릴 수 있습니다.
프로토콜 이름	Tissue_HC_200_V7_DSP
기본 분석 대조물질 세트	ACS_TissueHLC_200_V7_DSP
용출량	50, 100, 200 또는 400 µl
필요한 소프트웨어 버전	버전 4.0 이상
IVD 사용에 필요한 소프트웨어 구성	기본 프로필 1

필요하지만 제공되지 않는 품목

모든 검체 유형

- Buffer ATL, 4 x 50 ml(카탈로그 번호 939016)
- RNA 함량 최소화에 필요한 DNase가 없는 RNase A(표준 원액 100 mg/ml)

FFPE 조직(크실렌 미사용 파라핀 제거)

- Deparaffinization Solution(카탈로그 번호 939018)

FFPE 조직(크실렌 사용 파라핀 제거)

- 크실렌(99~100%)
- 에탄올(96~100%)*

"Sample"(검체) 드로어

검체 유형	FFPE 조직 및 조직
검체량	220 µl(검체당, 프로토콜당 필요)*
처리한 검체량	200 µl
일차 검체 튜브	해당 없음
이차 검체 튜브	자세한 내용은 www.qiagen.com 의 제품 페이지 Resources(리소스) 탭에 있는 랩웨어 목록을 참고하십시오.
인서트	자세한 내용은 www.qiagen.com 의 제품 페이지 Resources(리소스) 탭에 있는 랩웨어 목록을 참고하십시오.

* 함량이 높은 프로토콜과 낮은 함량 프로토콜 모두 액체 레벨 감지 없이 검체 전송이 수행되기 때문에 시스템은 검체량이 220 µl 미만인지 인식하지 못합니다. 따라서 검체 투입량이 220 µl인지 확인하십시오.

n/a = 해당 없음.

"Reagents and Consumables"(시약 및 소모품) 드로어

위치 A1 및/또는 A2	시약 카트리지(RC)
위치 B1	해당 없음
팁 랙 홀더 1~17	일회용 필터 팁, 200 µl 또는 1500 µl
유닛 박스 홀더 1~4	검체 준비 카트리지 포함 유닛 박스 또는 8-Rod Covers

n/a = 해당 없음.

* 메탄올 또는 메틸에틸케톤과 같은 추가 물질을 함유한 변성 알코올은 사용하지 마십시오.

“Waste”(폐기물) 드로어

유닛 박스 홀더 1~4

빈 유닛 박스

폐기물 봉지 홀더

폐기물 봉지

액체 폐기물 병 홀더

액체 폐기물 병을 비움

“Eluate”(용출액) 드로어

용출 랙(슬롯 1, 냉각 위치 사용 권장)

자세한 내용은 www.qiagen.com의 제품 페이지 Resources(리소스) 탭에 있는 랩웨어 목록을 참고하십시오.

필요한 플라스틱 용기

플라스틱 용기	1개 배치 24개 검체*	2개 배치 48개 검체*	3개 배치 72개 검체*	4개 배치 96개 검체*
Disposable filter-tips, 200 µl†	26	50	74	98
Disposable filter-tips, 1500 µl†	72	136	200	264
Sample prep cartridges‡	21	42	63	84
8-Rod Covers§	3	6	9	12

* 배치당 24개 미만의 검체를 사용하면 각 실행에 필요한 일회용 필터 팁 수가 감소합니다.

† 필터 팁/팁 랙이 32개 있습니다.

‡ 필요한 필터 팁 수에는 시약 카트리지가 한 번의 재고 검사에 필요한 필터 팁이 포함됩니다.

§ 유닛 박스당 검체 준비 카트리지가 28개가 있습니다.

¶ 유닛 박스당 8-Rod Covers가 12개 있습니다.

참고: 제공되는 필터 팁의 개수는 설정에 따라 터치스크린에 표시된 개수와 다를 수 있습니다. 가능한 한 팁을 많이 로드하는 것이 좋습니다.

용출량

용출량은 터치스크린에서 선택합니다. 검체 유형 및 DNA 함량에 따라 최종 용량이 선택한 용량보다 최대 15 µl 적을 수 있습니다. 전달하기 전에 용출량을 확인하지 않는 자동 분석 설정 시스템을 사용할 때는 용출량이 다를 수 있으므로 실제 용출량을 확인하는 것이 좋습니다. 용출량이 감소하면 최종 DNA 농도가 높아지지만 수율은 약간 감소합니다. 계획된 다운스트림 분석에 적합한 용출량을 사용하는 것이 좋습니다.

검체 물질 준비

화학물질을 사용할 때는 항상 적합한 실험용 가운, 일회용 장갑 및 보안경을 착용하십시오. 자세한 정보는 제품 공급업체에서 구할 수 있는 적절한 안전 보건 자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하십시오.

일반적인 채집, 운송 및 보관 권장 사항은 승인된 CLSI 지침 MM13-A “분자적 방법을 위한 표본 채집, 운송, 준비 및 보관”을 참고하십시오.

시작하기 전 해야 할 일

- Buffer ATL에 흰색 침전물이 있는지 확인합니다. 필요한 경우 37°C에서 30분간 배양하면서 가끔 흔들어 침전물을 용해시킵니다.
- 전처리를 수행할 때마다 ThermoMixer 또는 셰이커 배양기를 필요한 온도로 설정합니다.

조직

DNA 정제에는 신선 및 냉동 상태의 조직을 사용할 수 있습니다. DNA 수율과 품질은 조직 유형, 소스, 보관 조건에 따라 다릅니다. 신선한 조직은 처리하기 전에 작은 조각으로 잘라 -20°C 또는 -80°C에서 보관할 수 있습니다. 일반적으로 높은 DNA 수율을 제공하는 고품질 프로토콜을 사용하는 것이 좋습니다. 저함량 프로토콜과 용출량 50 µl의 조합은 다운스트림 분석에 높은 DNA 농도가 필요한 경우에만 사용하는 것이 좋습니다. 예상 수율에 대한 정보가 제공되지 않는 경우 고품질 프로토콜과 용출량 200 µl를 사용하여 검체 물질 25 mg으로 시작하는 것이 좋습니다. 산출된 수율에 따라 이후 준비에서 검체 크기를 늘리거나 용출량을 줄일 수 있습니다. 적은 용출량에 준비물을 과도하게 로드하면 자성 입자가 용출액으로 캐리오버되어 DNA 순도 및 다운스트림 분석이 손상될 수 있습니다.

참고: 냉동된 조직 검체로 작업할 때는 냉동된 조직 검체의 자동 NA 추출을 위한 ISO 20184-3:2021(E)을 고려해야 합니다.

참고: 검체 안정성은 다양한 요소에 따라 크게 달라지며 특정 다운스트림 분석과 관련이 있습니다. 실험실에서 사용되는 특정 다운스트림 분석에 대한 사용 지침을 확인하고 적절한 보관 조건을 설정하기 위해 전체 작업 흐름을 검증하는 것은 사용자의 책임입니다.

조직 전처리 프로토콜

1. 조직 검체를 2 ml 마이크로 원심분리기 튜브(제공되지 않음)로 옮깁니다.
2. Buffer ATL 220 µl를 첨가합니다.
3. 단백질분해효소 K 20 µl를 첨가하고 튜브를 가볍게 두드려 혼합합니다.
참고: QIAasymphony DSP DNA Mini Kit의 효소 랙에 있는 단백질분해효소 K를 사용하십시오.
4. 튜브를 열교반기 또는 셰이커 배양기에 넣고 조직이 완전히 용해될 때까지 900rpm으로 흔들면서 56°C에서 배양합니다.
참고: 용해 시간은 처리하는 조직 유형에 따라 차이가 있습니다. 대부분의 조직에서는 용해가 3시간 이내에 완료됩니다. 3시간 이후에도 용해가 완료되지 않으면 불용성 물질 또는 고점도 용해물이 있음을 나타내며, 이 경우 용해 시간을 연장하거나 6단계에 설명된 대로 불용성 물질을 원심분리로 제거할 수 있습니다. 냄새 용해할 수도 있으며 준비에 영향을 미치지 않습니다.
5. 검체의 RNA 함량을 최소화하려면 RNase A(100 mg/ml) 4 µl를 첨가하고 실온(15~25°C)에서 2분간 배양한 후 6단계를 진행합니다.
6. 위아래로 여러 번 피펫팅하여 검체를 균질화합니다.
참고: 불용성 물질 조각이 여전히 존재하는 경우 3000 x g에서 1분간 원심분리합니다.
7. QIAasymphony SP 검체 캐리어와 호환되는 검체 튜브에 상층액 220 µl를 조심스럽게 옮깁니다.
8. 호환 가능한 전체 검체 튜브 목록은 www.qiagen.com에서 랩웨어 목록을 참고하십시오. 2 ml 튜브를 사용하는 것이 좋습니다(예: Sarstedt, 카탈로그 번호 72.693 또는 72.608). 0.

FFPE 조직

표준 FFPE 절차를 수행하면 항상 핵산이 상당히 분절됩니다. DNA 분절 범위를 제한하려면 다음 사항을 준수하십시오.

- 수술적 제거 후 최대한 빨리 4~10%의 포르말린으로 조직 검체를 응고합니다.
- 14~24시간 동안 응고합니다(응고 시간이 더 길어지면 DNA 분절이 더 심해져 다운스트림 분석에서 성능이 저하됨).
- 포매 전에 검체를 철저히 탈수합니다(잔여 포르말린이 단백질분해효소 K의 소화를 억제할 수 있음).

DNA 정제를 위한 시재료는 FFPE 조직에서 방금 절단한 절편이어야 합니다. 한 번의 준비로 각각 두께 10 µm 이하의 절편 4개 또는 두께 5 µm 이하 및 표면적 250 mm² 이하의 절편 8개까지 처리할 수 있습니다. 시재료 특성에 대한 정보가 제공되지 않는 경우 단일 준비에 3개 이하의 절편을 사용하여 시작하는 것이 좋습니다. DNA 수율과 순도에 따라 후속 준비 과정에서 최대 8개의 절편을 사용할 수 있습니다.

참고: FFPE 조직으로 작업할 때는 FFPE 조직 검체의 자동 NA 추출을 위한 ISO 20166-3:2018(E)에서 검체 취급에 대한 추가 정보를 고려해야 합니다.

참고: FFPE 조직 프로토콜은 소량의 RNA만 공동 정제하도록 특별히 설계되었습니다. 이로 인해 수동 QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue Kit로 얻은 값에 비해 광도 측정 값이 감소합니다.

FFPE 조직 전처리 프로토콜

방법 1: Deparaffinization Solution을 사용한 파라핀 제거

1. 메스를 사용하여 검체 블록에서 여분의 파라핀을 잘라냅니다.
2. 10 µm 두께 절편의 경우 4개 이하, 5 µm 두께 절편의 경우 8개 이하로 절단합니다.
참고: 검체 표면이 공기에 노출된 경우에는 처음 2~3개의 절편을 버립니다.
3. QIASymphony SP 검체 캐리어와 호환되는 2 ml Sarstedt 튜브(제공되지 않음, 카탈로그 번호 72.693 또는 72.608)에 즉시 절편을 놓습니다.
4. 절편에 Buffer ATL 200 µl를 첨가합니다.
5. 단백질분해효소 K 20 µl를 첨가합니다.

참고: QIASymphony DSP DNA Mini Kit의 효소 랙에 있는 단백질분해효소 K를 사용하십시오.

6. Deparaffinization Solution 160 µl 또는 320 µl를 첨가하고 볼텍싱하여 혼합합니다.

절편 두께	절편 수	Deparaffinization Solution 용량
5 µm	1~4	160 µl
	5~8	320 µl
10 µm	1~2	160 µl
	3~4	320 µl

7. 튜브를 얼고반기 또는 셰이커 배양기에 넣고 조직이 완전히 용해될 때까지 1000rpm으로 흔들면서 56°C에서 1시간 동안 배양합니다.
참고: 용해 시간은 처리하는 조직 유형에 따라 차이가 있습니다. 대부분의 조직에서는 용해가 1시간 이내에 완료됩니다. 1시간 이후에도 용해가 완료되지 않으면 불용성 물질이 있음을 나타내며, 이 경우 용해 시간을 연장하거나 10단계에 설명된 대로 불용성 물질을 펠렛화할 수 있습니다. 밤새 용해할 수도 있으며 준비에 영향을 미치지 않습니다.
8. 90°C에서 1시간 동안 배양합니다.
참고: 90°C에서 Buffer ATL에 배양하는 경우 핵산의 포름알데히드 변형이 부분적으로 역전됩니다. 배양 기간이 늘어나거나 온도가 높아지면 DNA가 더 분절될 수 있습니다. 가열 블록을 하나만 사용하는 경우, 56°C 배양 후 가열 블록이 90°C에 도달할 때까지 검체를 실온에 둡니다.
9. 검체의 RNA 함량을 최소화하려면 하단 상태에 RNase A(100 mg/ml) 2 µl를 첨가하고 실온에서 2분간 배양한 후 10단계를 진행합니다. RNase A를 첨가하기 전에 검체를 실온으로 냉각합니다.
10. 1분 동안 실온에서 최대 속도로 원심분리합니다.
11. 튜브(두 가지 상태 모두 포함)를 QIAasympyony SP의 검체 캐리어로 조심스럽게 옮깁니다.

방법 2: 크실렌을 사용한 파라핀 제거

1. 메스를 사용하여 검체 블록에서 여분의 파라핀을 잘라냅니다.
2. 10 µm 두께 절편의 경우 4개 이하, 5 µm 두께 절편의 경우 8개 이하로 절단합니다.
참고: 검체 표면이 공기에 노출된 경우에는 처음 2~3개의 절편을 버립니다.
3. 절편을 즉시 1.5 ml 또는 2 ml 마이크로 원심분리기 튜브(제공되지 않음)에 넣고 검체에 크실렌 1 ml를 첨가합니다. 뚜껑을 닫고 10초 동안 세계 볼텍싱합니다.
4. 2분 동안 실온에서 최대 속도로 원심분리합니다.
5. 피펫팅으로 상층액을 제거합니다. 펠렛은 제거하지 않습니다.
6. 펠렛에 에탄올(96~100%) 1 ml를 첨가하고 볼텍싱하여 혼합합니다.
참고: 에탄올은 검체에서 잔류 크실렌을 추출합니다.
7. 2분 동안 실온에서 최대 속도로 원심분리합니다.
8. 피펫팅으로 상층액을 제거합니다. 펠렛은 제거하지 않습니다.
참고: 피펫 팁을 사용하여 신중하게 잔여 에탄올을 제거합니다.
9. 모든 잔여 에탄올이 증발할 때까지 튜브를 열고 실온(15~25°C)에서 10분간 배양합니다.
참고: 배양은 37°C 이하의 실온에서 수행할 수 있습니다.
10. 펠렛을 Buffer ATL 220 µl에 재현탁합니다.
11. 단백질분해효소 K 20 µl를 첨가하고 볼텍싱하여 혼합합니다.
참고: QIAasympyony DSP DNA Mini Kit의 효소 랙에 있는 단백질분해효소 K를 사용하십시오.
12. 56°C에서 1시간 동안(또는 검체가 완전히 용해될 때까지) 배양합니다.

참고: 용해 시간은 처리하는 조직 유형에 따라 차이가 있습니다. 대부분의 조직에서는 용해가 1시간 이내에 완료됩니다. 1시간 이후에도 용해가 완료되지 않으면 불용성 물질이 있음을 나타내며, 이 경우 용해 시간을 연장하거나 16단계에 설명된 대로 불용성 물질을 제거할 수 있습니다. 밤새 용해할 수도 있으며 준비에 영향을 미치지 않습니다.

13. 90°C에서 1시간 동안 배양합니다.

참고: 90°C에서 Buffer ATL에 배양하는 경우 핵산의 포름알데히드 변형이 부분적으로 역전됩니다. 배양 기간이 늘어나거나 온도가 높아지면 DNA가 더 분절될 수 있습니다. 가열 블록을 하나만 사용하는 경우, 56°C 배양 후 가열 블록이 90°C에 도달할 때까지 검체를 실온에 둡니다.

14. 검체를 짧게 원심분리하여 뚜껑 안쪽에서 액체 방울을 제거합니다.

15. 검체의 RNA 함량을 최소화하려면 RNase A(100 mg/ml) 2 µl를 첨가하고 실온에서 2분간 배양한 후 16단계를 진행합니다. RNase A를 첨가하기 전에 검체를 실온으로 냉각합니다.

16. QIAsymphony SP 검체 캐리어와 호환되는 검체 튜브에 용해물 220 µl를 조심스럽게 옮깁니다.

참고: 용해물에 소화되지 않은 물질이 포함된 경우 상층액을 검체 튜브로 옮기기 전에 실온에서 최대 속도로 2분간 원심분리하십시오. 호환 가능한 전체 검체 튜브 목록은 www.qiagen.com에서 랩웨어 목록을 참고하십시오. 2 ml 튜브를 사용하는 것이 좋습니다(예: Sarstedt, 카탈로그 번호 72.693 또는 72.608).

용출액 보관

실행이 끝나면 곧바로 "Eluate"(용출액) 드로어에서 용출 플레이트를 꺼내는 것이 좋습니다. 실행이 밤새 완료된 후 용출 플레이트를 QIAsymphony SP에 둘 수 있습니다(실행 시간 포함 최대 12시간, 다음 환경 조건 권장: 18~26°C 및 상대 습도 20~75%). 온도와 습도에 따라 용출액에서 응축 또는 증발이 발생할 수 있습니다.

용출액을 단기 보관하는 경우 실온에서 최대 2주간 보관할 수 있습니다. 장기 보관하는 경우 2~8°C, -20°C 또는 -80°C에서 보관하는 것이 좋습니다.

참고: 용출액 안정성은 다양한 요소에 따라 크게 달라지며 특정 다운스트림 분석과 관련이 있습니다. 이는 전형적인 다운스트림 분석과 함께 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit에 맞게 설정되어 있습니다. 실험실에서 사용되는 특정 다운스트림 분석에 대한 사용 지침을 확인하고 적절한 보관 조건을 설정하기 위해 전체 작업 흐름을 검증하는 것은 사용자의 책임입니다.

시작 전 중요 사항

- QIAsymphony 자성 입자는 RNA와 DNA가 둘 다 검체에 존재하는 경우 이들을 동반 정제합니다. RNA 미포함 DNA가 필요한 경우 각 전처리 프로토콜에 표시된 단계에서 RNase A를 검체에 첨가하십시오.





제한 사항 및 간섭 물질

QIAsymphony DSP DNA Mini Kit를 개발하는 동안 검체 준비에 부정적인 영향을 미치는 것으로 확인된 간섭 물질은 없습니다.

참고: 추출된 핵산의 품질을 평가하기 위해 전형적인 다운스트림 분석을 사용하여 검사를 수행했습니다. 그러나 다운스트림 분석에 따라 순도 관련 요구 사항이 서로 다를 수 있으므로(즉, 잠재적 간섭 물질의 부재), QIAsymphony DSP DNA Mini Kit와 관련된 모든 작업 흐름에 대해 관련 물질의 식별 및 검사 과정도 다운스트림 분석 개발의 일부로 설정해야 합니다.

기호

이 문서에는 다음 기호가 사용됩니다. 사용 지침이나 포장 및 라벨링에 사용된 전체 기호 목록은 안내서를 참고하십시오.

기호	기호 정의
	이 제품은 체외 진단 의료 기기에 대한 유럽 규정 2017/746의 요구 사항을 충족합니다.
	체외 진단용 의료 기기
	카탈로그 번호
Rn	R은 사용 설명서의 개정 버전을 나타내며, n은 개정 번호입니다
	제조업체

개정 이력

개정판	설명
R1, 2022년 6월	버전 2, 개정본 1 <ul style="list-style-type: none">• IVD 준수를 위해 버전 2로 업데이트• 제한 사항 및 간섭 물질 섹션 추가• 용출액 보관 섹션 추가• 기호 섹션 추가• 검체 물질 준비 섹션 업데이트

최신 라이선스 정보 및 제품별 면책 사항은 각 QIAGEN® 키트 안내서 또는 사용 설명서를 참고하십시오. QIAGEN 키트 안내서와 사용 설명서는 www.qiagen.com에서 확인하거나 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 요청할 수 있습니다.

상표: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAAsymphony®(QIAGEN 그룹), BD™(Becton Dickinson and Company), Sarstedt®(Sarstedt AG and Co.). 이 문서에 사용된 등록된 이름, 상표 등은 별도로 표시되지 않은 경우에도 법적 보호를 받는 것으로 간주됩니다.

06/2022 HB-3029-S07-001© 2022 QIAGEN, 모든 권리 보유.