

# Bruksanvisning (protokollskjema) for QIAsymphony<sup>®</sup> DSP DNA Mini Kit

Tissue\_LC\_200\_V7\_DSP- og Tissue\_HC\_200\_V7\_DSP-protokoller

Versjon 2



Til in vitro-diagnostikk

Til bruk sammen med QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (192)



937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1

Protokollbladet finnes elektronisk under ressursfanen på produktsiden på  
[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Generell informasjon

QIASymphony DSP DNA Kit er beregnet på bruk i in vitro-diagnostikk.

Disse protokollene er for rensing av totalt DNA fra vev og formalinfikserte, parafininnstøpte (Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) vev ved bruk av QIASymphony SP og QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

Avhengig av prøvetypen anbefaler vi å bruke enten protokollen for lavt innhold (LC) eller høyt innhold (HC). Vev vil gi økte DNA-resultater når de behandles med protokollen for høyt innhold, men protokollen for lavt innhold, i kombinasjon med et lite elusjonsvolum (50 µl), kan brukes hvis det er nødvendig med høy DNA-konsentrasjon. For FFPE-vev anbefaler vi å bruke protokollen for lavt innhold.

### Protokoll for lavt innhold

<b>Sett</b>	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (kat.nr. 937236)
<b>Prøvemateriale</b>	FFPE-vev og vev* Opptil 4 FFPE-vevsnitt, hvert med en tykkelse på inntil 10 µm, eller 8 snitt, med en tykkelse på inntil 5 µm og et overflateområde på inntil 250 mm <sup>2</sup> , kan kombineres i én klargjøring.
<b>Protokollnavn</b>	Tissue_LC_200_V7_DSP
<b>Standard analysekontrollsett</b>	ACS_Tissue_LC_200_V7_DSP
<b>Elusjonsvolum</b>	50 µl, 100 µl, 200 µl eller 400 µl
<b>Nødvendig programvareversjon</b>	Versjon 4.0 eller høyere
<b>Nødvendig programvarekonfigurasjon for IVD-bruk</b>	Standardprofil 1

\* Se protokollen for høyt innhold for informasjon om vevsprøver.

### Protokoll for høyt innhold

<b>Sett</b>	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (kat.nr. 937236)
<b>Prøvemateriale</b>	Vev Hvis det ikke er noen tilgjengelig informasjon om forventet resultat, anbefaler vi å starte med 25 mg prøvemateriale. Avhengig av oppnådd resultat kan prøvestørrelsen økes i etterfølgende klargjøring.
<b>Protokollnavn</b>	Tissue_HC_200_V7_DSP
<b>Standard analysekontrollsett</b>	ACS_TissueHLC_200_V7_DSP
<b>Elusjonsvolum</b>	50, 100, 200 eller 400 µl
<b>Nødvendig programvareversjon</b>	Versjon 4.0 eller høyere
<b>Nødvendig programvarekonfigurasjon for IVD-bruk</b>	Standardprofil 1

## Nødvendige materialer som ikke følger med

### For alle prøvetyper

- Buffer ATL, 4 x 50 ml (kat.nr. 939016)
- Slik minimeres RNA-innhold: DNase-fri RNase A (lagerløsning på 100 mg/ml)

### For FFPE-vev (xylenfri parafinfjerning)

- Deparaffinization Solution (kat.nr. 939018)

### For FFPE-vev (parafinfjerning ved bruk av xylene)

- Xylene (99–100 %)
- Etanol (96–100 %)\*

## Skuffen «Sample» (Prøve)

Prøvetype	FFPE-vev og vev
Prøvevolum	220 µl (nødvendig per prøve, etter protokoll)*
Behandlet prøvevolum	200 µl
Primære prøverør	I/R
Sekundære prøverør	Du finner mer informasjon i listen over laboratorieutstyr. Du finner listen under ressursfanen på produksiden på <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
Innlegg	Du finner mer informasjon i listen over laboratorieutstyr. Du finner listen under ressursfanen på produksiden på <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .

\* For protokoller for både høyt og lavt innhold vil ikke systemet kjenne dem igjen hvis prøvevolumet er mindre enn 220 µl fordi prøveoverføringen utføres uten væskenedeteksjon. Derfor må det sikres at prøvetilførselsvolumet er 220 µl.

I/R = ikke relevant.

## Skuffen «Reagents and Consumables» (Reagenser og forbruksartikler)

Posisjon A1 og/eller A2	Reagenskassett (RC)
Posisjon B1	I/R
Spisativholder 1–17	Engangsfilterspisser, 200 or 1500 µl
Enhetsbokholder 1–4	Enhetsbokser inneholder prøveklargjøringskassetter eller 8-Rod Covers

I/R = ikke relevant.

\* Ikke bruk denaturert alkohol, da denne inneholder ekstra stoffer, slik som metanol eller metyletylenketon.

## Skuffen «Waste» (Avfall)

Enhetsbokholder 1–4	Tomme enhetsbokser
Avfallsposeholder	Avfallspose
Holder for væskeavfallsflaske	Tom væskeavfallsflaske

## Skuffen «Eluate» (Eluat)

Elusjonsstativ (vi anbefaler bruk av spor 1, kjøleposisjon)

Du finner mer informasjon i listen over laboratorieutstyr. Du finner listen under ressursfanen på produktsiden på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Nødvendige plastdeler

Plastdeler	Ett parti 24 prøver*	To partier 48 prøver*	Tre partier 72 prøver*	Fire partier 96 prøver*
Disposable filter-tips, 200 µl <sup>†</sup>	26	50	74	98
Disposable filter-tips, 1500 µl <sup>†</sup>	72	136	200	264
Sample prep cartridges <sup>‡</sup>	21	42	63	84
8-Rod Covers <sup>§</sup>	3	6	9	12

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

<sup>†</sup> Det er 32 filterspisser/spisstativ.

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

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

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

Merk: Antall angitte filterspisser kan avvike fra antallene vist på berøringsskjermen avhengig av innstillinger. Vi anbefaler å laste maksimalt antall mulige spisser.

## Elusjonsvolum

Elusjonsvolumet velges på berøringsskjermen. Avhengig av prøvetype og DNA-innhold kan endelig volum variere med inntil 15 µl mindre enn valgt volum. På grunn av at eluatvolumet kan variere, anbefaler vi å kontrollere det faktiske eluatvolumet ved bruk av et automatisk analyseoppsettssystem som ikke verifiserer eluatvolumet forut for overføringen. Elusjon i lavere volum øker den endelige DNA-konsentrasjonen, men reduserer utbyttet noe. Vi anbefaler å bruke et elusjonsvolum egnet for den tiltenkte nedstrømsapplikasjonen.

## Klargjøring av prøvematerialer

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller under arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablad (SDS) som leveres av leverandøren av produktet, hvis du ønsker mer informasjon.

Generelle anbefalinger om prøvetaking, -transport og -oppbevaring finnes i den godkjente CLSI-veiledningen MM13-A «Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods» (Prøvetaking, -transport, -klargjøring og -oppbevaring for molekylære metoder).

## Ting du skal gjøre før du starter

- Kontroller Buffer ATL for hvitt presipitat. Inkuber ved behov i 30 minutter ved 37 °C med risting av og til for å løse opp presipitat.
- Still en termomikser eller risterinkubator til den temperaturen som kreves for den respektive forhåndsbehandlingen.

## Vev

Ferskt og fryst vev kan brukes til DNA-rensing. DNA-utbytte og -kvalitet vil avhenge av vevstype, kilde og oppbevaringsforhold. Ferskt vev kan kuttes i små biter og oppbevares ved –20 °C eller –80 °C før behandling. Generelt sett anbefaler vi å bruke protokollen for høyt innhold, som vil gi økte DNA-resultater. Protokollen for lavt innhold, i kombinasjon med 50 µl elusjonsvolum, anbefales bare hvis høye DNA-konsentrasjoner er nødvendige for nedstrømsanalyse. Hvis det ikke er noen tilgjengelig informasjon om forventet resultat, anbefaler vi å starte med 25 mg prøvemateriale ved bruk av protokollen for høyt innhold og 200 µl elusjonsvolum. Avhengig av oppnådd resultat kan prøvestørrelsen økes eller elusjonsvolumet reduseres i etterfølgende klargjøringer. Vær oppmerksom på at overlasting av klargjøringer i kombinasjon med små elusjonsvolum kan forårsake medrivning av magnetpartikler over i eluatet og forringe DNA-renheten og nedstrømsanalysen.

**Merk:** Ved arbeid med fryste vevsprøver må det tas hensyn til ISO 20184-3:2021 (E) for automatisert NA-ekstraksjon fra fryste vevsprøver.

**Merk:** Prøvestabilitet avhenger mye av forskjellige faktorer og er knyttet til den spesifikke nedstrømsapplikasjonen. Det er brukerens ansvar å se bruksanvisningen for den spesifikke nedstrømsapplikasjonen i laboratoriet og/eller godkjenne hele arbeidsflyten for å fastsette egnede oppbevaringsvilkår.

## Forhåndsbehandlingsprotokoll for vev

1. Overfør vevsprøven til et 2 ml mikrosentrifugerør (medfølger ikke).
2. Tilsett 220 µl Buffer ATL.
3. Tilsett 20 µl proteinase K og bland ved å tappe på røret.

**Merk:** Bruk proteinase K fra enzymstativet til QIA Symphony DSP DNA Mini Kit.

4. Plasser røret i en termomikser eller rister-inkubator og inkuber ved 56 °C med risting ved 900 o/min inntil vevet er fullstendig lysert.

**Merk:** Lyseringstiden varierer avhengig av vevstypen som behandles. For de fleste vev fullføres lysering innen 3 timer. Hvis lyseringen er ufullstendig etter 3 timer, noe forekomst av uopløselig materiale eller svært viskøse lysater indikerer, kan lyseringstiden forlenges, eller uopløselig materiale kan fjernes ved sentrifugering som beskrevet i trinn 6. Lysering over natten er mulig og påvirker ikke klargjøringen.

5. Minimer RNA-innholdet i prøven ved å tilsette 4 µl RNase A (100 mg/ml) og inkubere i 2 min ved romtemperatur (15–25 °C) før det fortsettes med trinn 6.

6. Homogeniser prøven ved å pipettere opp og ned flere ganger.

**Merk:** Hvis deler av uopløselig materiale fortsatt finnes, sentrifugeres prøven ved 3000 x g i 1 minutt.

7. Overfør forsiktig 220 µl supernatant til prøverørene som er kompatible med prøveholderen til QIA Symphony SP.
8. En fullstendig liste over kompatible prøverør finnes på listen over laboratorieutstyr på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Vi anbefaler bruk av 2 ml rør (f.eks. Sarstedt, kat.nr. 72.693 eller 72.608). 0.

## FFPE-vev

Standard FFPE-prosedyrer fører alltid til betydelig fragmentering av nukleinsyrer. Sørg for følgende for å begrense omfanget av DNA-fragmentering:

- Fikser vevsprøver i 4–10 % formalin så hurtig som mulig etter kirurgisk fjerning
- Bruk en fikseringstid på 14–24 timer (lengre fikseringstider fører til mer alvorlig DNA-fragmentering, noe som fører til dårlig ytelse i nedstrømsanalyser)
- Dehydrer prøvene grundig før innstøpning (resterende formalin kan inhibere proteinase K-forbrenningen)

Startmaterialet for DNA-rensingen skal være ferskkuttede snitt av FFPE-vev. Opptil 4 snitt, hvert med en tykkelse på inntil 10 µm, eller 8 snitt, med en tykkelse på inntil 5 µm og et overflateområde på inntil 250 mm<sup>2</sup>, kan behandles i én klargjøring. Hvis informasjon om startmaterialets art ikke er tilgjengelig, anbefaler vi å starte med høyst 3 snitt i én klargjøring. Avhengig av DNA-ytelse og renhet kan det være mulig å bruke inntil 8 snitt i etterfølgende klargjøringer.

**Merk:** Ved arbeid med FFPE-vev må det tas hensyn til ISO 20166-3:2018 (E) for automatisert NA-ekstraksjon fra FFPE-vevsprøver for mer informasjon om prøvebehandling.

**Merk:** FFPE-vevsprotokollene er spesialutviklet til bare å rense lave mengder av RNA. Dette vil føre til en redusert fotometrisk målingsverdi sammenlignet med verdier som er oppnådd med det manuelle QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue Kit.

### Forhåndsbehandlingsprotokoll for FFPE-vev

Metode 1: parafin fjerning ved bruk av Deparaffinization Solution

1. Ved bruk av en skalpell trimmes overflødig parafin fra prøveblokken.
2. Kutt opptil 4 snitt 10 µm tykke eller opptil 8 snitt 5 µm tykke.  
Merk: Hvis prøveoverflaten er blitt utsatt for luft, kast de første 2–3 snittene.
3. Plasser snittene umiddelbart i et 2 ml Sarstedt-rør (medfølger ikke, kat.nr. 72.693 eller 72.608) som er kompatibelt med prøveholderen til QIA Symphony SP.
4. Tilsett 200 µl Buffer ATL i snittene.
5. Tilsett 20 µl proteinase K.  
Merk: Bruk proteinase K fra enzymstativet til QIA Symphony DSP DNA Mini Kit.
6. Tilsett 160 µl eller 320 µl Deparaffinization Solution (se tabellen nedenfor), og roter.

Snittykkelse	Antall snitt	Volum av Deparaffinization Solution
5 µm	1–4	160 µl
	5–8	320 µl
10 µm	1–2	160 µl
	3–4	320 µl

7. Plasser røret i en termomikser eller rister-inkubator, og inkuber ved 56 °C i 1 time med risting ved 1000 o/min inntil vevet er fullstendig lysert.

Merk: Lyseringstiden varierer avhengig av vevstypen som behandles. For de fleste vev fullføres lysering innen 1 time. Hvis lyseringen er ufullstendig etter 1 time, noe forekomst av uopløselig materiale indikerer, kan lyseringstiden forlenges, eller uopløselig materiale kan pelleteres ved sentrifugering som beskrevet i trinn 10. Lysering over natten er mulig og påvirker ikke klargjøringen.

8. Inkuber ved 90 °C i 1 time.

Merk: Inkuberingen ved 90 °C i Buffer ATL reverserer delvis formaldehydmodifisering av nukleinsyrer. Lengre inkubasjonstider eller høyere inkubasjonstemperaturer kan føre til mer fragmentert DNA. Hvis det brukes bare én varmeblokk, la prøven stå i romtemperatur etter 56 °C-inkuberingen inntil varmeblokken har nådd 90 °C.

9. Minimer RNA-innholdet i prøven ved å tilsette 2 µl RNase A (100 mg/ml) i den nedre fasen og inkubere i 2 min ved romtemperatur før det fortsettes med trinn 10. La prøven kjølnes til romtemperatur før RNase A tilsettes.

10. Sentrifuger ved full hastighet i 1 minutt ved romtemperatur.

11. Overfør forsiktig rør (som inneholder begge faser) til prøveholderen til QIAAsymphony SP.

## Metode 2: parafinjerning ved hjelp av xylene

1. Ved bruk av en skalpell trimmes overflødig parafin fra prøveblokken.

2. Kutt opptil 4 snitt 10 µm tykke eller opptil 8 snitt 5 µm tykke.

Merk: Hvis prøveoverflaten er blitt utsatt for luft, kast de første 2–3 snittene.

3. Umiddelbart skal snittene plasseres i et 1,5 eller 2 ml mikrosentrifugerør (medfølger ikke), og det tilsettes 1 ml xylene i prøven. Lukk lokket, og roter grundig i 10 s.

4. Sentrifuger ved full hastighet i 2 min ved romtemperatur.

5. Fjern supernatanten ved å pipettere. Ikke fjern noe av pelleten.

6. Tilsett 1 ml etanol (96–100 %) i pelleten og bland ved å rotere.

Merk: Etanolen ekstraherer resterende xylene fra prøven.

7. Sentrifuger ved full hastighet i 2 min ved romtemperatur.

8. Fjern supernatanten ved å pipettere. Ikke fjern noe av pelleten.

Merk: Fjern forsiktig all resterende etanol ved bruk av en fin pipettespiss.

9. Åpne røret, og inkuber ved romtemperatur (15–25 °C) i 10 min eller inntil alt resterende etanol har fordampet.

Merk: Inkubasjon kan utføres ved temperaturer på inntil 37 °C.

10. Resuspender pelleten i 220 µl Buffer ATL.

11. Tilsett 20 µl proteinase K og bland ved å rotere.

Merk: Bruk proteinase K fra enzymstativet til QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit.

12. Inkuber ved 56 °C i 1 time (eller inntil prøven har blitt fullstendig lysert).

Merk: Lyseringstiden varierer avhengig av vevstypen som behandles. For de fleste vev fullføres lysering innen 1 time. Hvis lyseringen er ufullstendig etter 1 time, noe forekomst av uopløselig materiale indikerer, kan lyseringstiden forlenges, eller uopløselig materiale kan fjernes ved sentrifugering som beskrevet i trinn 16. Lysering over natten er mulig og påvirker ikke klargjøringen.

13. Inkuber ved 90 °C i 1 time.

Merk: Inkuberingen ved 90 °C i Buffer ATL reverserer delvis formaldehydmodifisering av nukleinsyrer. Lengre inkubasjonstider eller høyere inkubasjonstemperaturer kan føre til mer fragmentert DNA. Hvis det brukes bare én varmeblokk, la prøven stå i romtemperatur etter 56 °C-inkuberingen inntil varmeblokken har nådd 90 °C.

14. Sentrifuger prøven kort for å fjerne dråper fra innsiden av lokket.
15. Minimer RNA-innholdet i prøven ved å tilsette 2 µl RNase A (100 mg/ml) og inkubere i 2 min ved romtemperatur før det fortsettes med trinn 16. La prøven kjøle til romtemperatur før RNase A tilsettes.
16. Overfør forsiktig 220 µl av lysatet til prøverørene som er kompatible med prøveholderen til QIASymphony SP.

Merk: Hvis lysater inneholder materiale som ikke er forbrent, sentrifuger ved full hastighet i 2 min ved romtemperatur før du overfører supernatant til prøverørene. En fullstendig liste over kompatible prøverør finnes på listen over laboratoriestyr på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Vi anbefaler bruk av 2 ml rør (f.eks. Sarstedt, kat.nr. 72.693 eller 72.608).

## Oppbevaring av eluater

Det er anbefalt at eluatplaten fjernes fra skuffen «Eluate» (Eluat) umiddelbart etter at kjøringen er ferdig. Elusjonsplater kan stå igjen i QIASymphony SP etter at kjøringen er fullført over natten (maksimalt 12 timer inkludert kjøretid med følgende anbefalte miljøbetingelser: 18–26 °C og 20–75 % relativ luftfuktighet). Avhengig av temperatur og fuktighet kan eluatet bli utsatt for kondens eller damp.

Ved korttidsoppbevaring kan eluater oppbevares ved romtemperatur i opptil 2 uker. Ved langtidsoppbevaring anbefaler vi oppbevaring ved 2–8 °C, –20 °C eller –80 °C.

Merk: Eluatstabilitet avhenger mye av forskjellige faktorer og er knyttet til den spesifikke nedstrømsapplikasjonen. Det er fastsatt for QIASymphony DSP DNA Mini Kit sammen med eksempler på nedstrømsapplikasjoner. Det er brukerens ansvar å se bruksanvisningen for den spesifikke nedstrømsapplikasjonen i laboratoriet og/eller godkjenne hele arbeidsflyten for å fastsette egnede oppbevaringsvilkår.

## Viktig punkt før du starter

- QIASymphonys magnetpartikler renses både RNA og DNA hvis begge er til stede i prøven. Hvis RNA-fri DNA kreves, skal RNase A tilsettes prøven i det trinnet som er angitt i den aktuelle protokollen for forhåndsbehandling.

## Begrensninger og interfererende stoffer





Under utvikling av QIASymphony DSP DNA Mini Kit ble det ikke påvist at noen interfererende stoffer hadde en negativ påvirkning på prøveklargjøringen.

Merk: Testing ble utført ved hjelp av eksempler på nedstrømsapplikasjoner for å vurdere kvaliteten på de ekstraherte nukleinsyrene. Forskjellige nedstrømsapplikasjoner kan imidlertid ha forskjellige krav med hensyn til renhet (dvs. fravær av potensielle interfererende stoffer), så identifisering og testing av relevante stoffer må også fastsettes som en del av utviklingen av nedstrømsapplikasjonen for arbeidsflyt som omfatter QIASymphony DSP DNA Mini Kits.



## Symboler

Følgende symboler vises i dette dokumentet. En fullstendig liste over benyttede symboler i bruksanvisningen eller på emballasjen og merkingen finnes i håndboken.

Symbol	Symboldefinisjon
	Dette produktet oppfyller kravene i den europeiske bestemmelsen 2017/746 for in vitro-diagnostiske medisinske enheter.
	In vitro-diagnostisk medisinsk enhet
	Katalognummer
Rn	R står for revisjon av bruksanvisningen, og n står for revisjonsnummeret
	Produsent

# Endringshistorikk

## Revisjon

## Beskrivelse

R1, juni 2022

Versjon 2, revisjon 1

- Oppdatering til versjon 2 for samsvar med IVD
- Innsetting av avsnittet Begrensninger og interfererende stoffer
- Innsetting av avsnittet Oppbevaring av eluater
- Innsetting av avsnittet Symboler
- Oppdatering av avsnittet Klargjøring av prøvemateriale

Oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser finnes i 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 leveres fra QIAGENS tekniske serviceavdeling eller den lokale distributøren.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™ (Becton Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke anses som ubeskyttet av lov, selv når de ikke er spesielt merket som sådan.  
06/2022 HB-3029-S07-001 © 2022 QIAGEN. Med enerett.