

QIAsymphony® DSP Circulating DNA Kit 使用 説明書（プロトコールシート）

circDNA_1000_DSP_V2、circDNA_2000_DSP_V4、circDNA_4000_DSP_V4、

circDNA_6000_DSP_V1、circDNA_8000_DSP_V1、circDNA_10000_DSP_V1

IVD

体外診断用

使用用途

	Σ	REF	バージョン
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

CE

R3

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

プロトコールシートは電子版もご利用いただけます。

www.qiagen.com の製品ページのリソースタブをご覧ください。

一般情報

体外診断用です。

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 (192)	QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit (96)	
カタログ番号	937556	937555	
サンプル材料	ヒト血漿： <ul style="list-style-type: none">ccfDNA プロファイル安定剤を含む血液採取チューブからccfDNA プロファイル安定剤を含まない血液採取チューブから ヒト尿： <ul style="list-style-type: none">cfDNA プロファイル安定剤を含むcfDNA プロファイル安定剤を含まない		
プロトコール名	circDNA_1000_DSP_V2	circDNA_2000_DSP_V4	circDNA_4000_DSP_V4
デフォルトのアッセイコントロールセット	ACS_circDNA_1000_DSP_V2	ACS_circDNA_2000_DSP_V4	ACS_circDNA_4000_DSP_V4
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 5.0 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

キット	QIAsymphony DSP Circulating DNA Maxi Kit (192)	QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit (96)	
カタログ番号	937566	937555	
サンプル材料	ヒト血漿： <ul style="list-style-type: none">ccfDNA プロファイル安定剤を含む血液採取チューブからccfDNA プロファイル安定剤を含まない血液採取チューブから ヒト尿： <ul style="list-style-type: none">cfDNA プロファイル安定剤を含むcfDNA プロファイル安定剤を含まない		
プロトコール名	circDNA_6000_DSP_V1	circDNA_8000_DSP_V1	circDNA_10000_DSP_V1
デフォルトのアッセイコントロールセット	ACS_circDNA_6000_DSP_V1	ACS_circDNA_8000_DSP_V1	ACS_circDNA_10000_DSP_V1
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 5.0 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装着してください。詳細については、製品の供給元が提供する適切な安全データシート (SDS) を参照してください。

「Sample (サンプル)」ボックス

サンプルの種類	ヒト血漿と尿（「サンプル材料の準備」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、 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。
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、 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。
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、 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。
その他	プロテイナーゼ K は、スロット A（位置 1、2、3）に追加する必要があります。

「Sample (サンプル)」ドロワーでのプロテイナーゼ K の調製

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。

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (96)（カタログ番号 937555）を 6 mL、8 mL、10 mL のサンプル入力で使用する場合、合計 96 サンプルを処理するために、Proteinase K（カタログ番号 19134）を追加注文する必要があります。

合計 96 サンプルを処理するためにプロテイナーゼ K ボトルを追加注文する

プロトコール	circDNA_6000_DSP	circDNA_8000_DSP	circDNA_10000_DSP
プロテイナーゼ K ボトル	1	2	3

注釈：必要なプロテイナーゼ K ボトルの数はバッチ サイズによって異なります（必要なプロテイナーゼ K の正確な量の計算については、下の表を参照してください）。

注釈：Proteinase K を入れたチューブをチューブキャリアに配置します。プロテイナーゼ K を入れたチューブを優先的に位置 1 に配置する必要があります。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 に配置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 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)	circDNA_6000_DSP (μL)	circDNA_8000_DSP (μL)	circDNA_10000_DSP (μL)
8	1580	1980	2860	3740	4620	5500
24	2540	3740	6380	9020	11,660	15,400 [§]
48	3980	6380	11,660	18,040 [†]	23,320 [†]	29,700 [§]
72	5420	9020	18,040 [†]	27,060 [†]		
96	6860	11,660	23,320 [†]			

* 各サンプルには、circDNA_1000_DSP では 60 μL、circDNA_2000_DSP では 110 μL、circDNA_4000_DSP では 220 μL、circDNA_6000_DSP では 330 μL、circDNA_8000_DSP では 440 μL、または circDNA_10000_DSP では 550 μL が必要です。さらに 1100 μL [(n x 60、110、220 μL、330、440 または 550 μL) + 1100 μL] の空容量が必要です。

† 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 の空容量を加えることが必要です。

‡ circDNA_6000_DSP および circDNA_8000_DSP の場合：24 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ます（サンプル数に応じて最大 3 本のチューブを使用できます）。チューブ 1 本当たりの最大充填量は 11,660 μL です。各チューブには、1100 μL の空容量がさらに必要です。

§ circDNA_10000_DSP の場合：19 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ます（サンプル数に応じて最大 3 本のチューブを使用できます）。チューブ 1 本当たりの最大充填量は 11,660 μL です。各チューブには、1100 μL の空容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	Disposable filter-tips, 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

「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、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。

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 µl [†]	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µL [†]	64	120	176	232
サンプル調整カートリッジ [‡]	15	30	45	60
8-Rod Covers [§]	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 回のランに必要な使い捨てのフィルターチップの数が少なくてすみません。

[†] 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 に対してインベントリスキャンを 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 個のサンプル調整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 µl [†]	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µL [†]	64	120	176	232
サンプル調整カートリッジ [‡]	15	30	45	60
8-Rod Covers [§]	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 回の解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すみません。

[†] 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 に対してインベントリスキャンを 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 個のサンプル調整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

	1 バッチ	2 バッチ	3 バッチ	4 バッチ
プラスチック製品	24 サンプル*	48 サンプル*	72 サンプル*	96 サンプル*
Disposable filter-tips, 200 µl††	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl††	104	200	298	394
サンプル調整カートリッジ§	18	36	54	72
8-Rod Covers‡	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 回の解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 に対してイベントリスクキャンを 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 個のサンプル調整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：circDNA_6000_DSP、circDNA_8000_DSP、circDNA_10000_DSP プロトコールの場合、必要な消耗品によって、ハンズオン時間なしでランを完了するためのサンプル数が制限されます（デッキ レイアウトで使用できるチップ ラックは 18 個のみです）。

プロトコール circDNA_6000_DSP

	1 バッチ	2 バッチ	3 バッチ
プラスチック製品	24 サンプル*	48 サンプル*	72 サンプル*
Disposable filter-tips, 200 µl††	28	56	84
Disposable filter-tips, 1500 µl††	148	284	424
サンプル調整カートリッジ§	21	42	63
8-Rod Covers‡	3	6	9

* 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 回の解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 に対してイベントリスクキャンを 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 個のサンプル調整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_8000_DSP

	1 バッチ	2 バッチ
プラスチック製品	24 サンプル*	48 サンプル*
Disposable filter-tips, 200 µl††	28	56
Disposable filter-tips, 1500 µl††	184	364
サンプル調整カートリッジ§	24	48
8-Rod Covers‡	3	6

* 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 回の解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 に対してイベントリスクキャンを 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 個のサンプル調整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_10000_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*
Disposable filter-tips, 200 µl††	28	56
Disposable filter-tips, 1500 µl††	224	448
サンプル調整カートリッジ‡	27	54
8-Rod Covers§	3	6

* 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 回の解析に必要な使い捨てのフィルターチップの数が少なくすみません。

† 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 に対してインベントリスキャンを 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 個のサンプル調整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：たとえば、バッチごとに使用する内部コントロールの数など、設定によっては、フィルターチップ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。最大数のチップをロードすることをお勧めします。

溶出量

選択した溶出量	初回溶出量
60 µL	75 µL

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 60 µL 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 µL 少ない量（55 µL 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。

サンプル材料の調製

注釈：検体の安定性と核酸抽出のパフォーマンスは、検体の収集装置と方法、保管温度、凍結融解サイクル、輸送条件などのさまざまな要因に大きく依存し、特定の downstream アプリケーションに関連しています。これは、典型的な検体採取装置および downstream アプリケーションと組み合わせた場合の QIAAsymphony DSP Circulating DNA Kit について確立されています。ユーザーの実験室で使用する特定の検体の採取装置と downstream アプリケーションの使用説明書を参照し、ワークフロー全体を検証して適切な稼働条件を確立する責任はユーザーにあります。

一般的な採取、輸送、保管に関する推奨事項については、承認済みの CLSI ガイドライン MM13-A 「分子的方法のための検体の採取、輸送、調製、保管」を参照してください。また、サンプルの調製、保管、輸送、および取り扱い全般において、選定したサンプル採取器具の製造者が提供する指示書に従ってください。

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。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。

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°C)、16,000 x g で 10 分間行うことをお勧めします。

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、循環無細胞核酸収量が減る可能性があります。30°C のウォーターバスで 30 分間血漿を融解するようお勧めします。クリオプレシピテートがサンプル中に見られる場合は、サンプルを機器にロードする前にクリオプレシピテートを除去する必要があります。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 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)。ただちに精製手順を開始してください。

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。典型的なダウンストリームアプリケーションを QIASymphony DSP Circulating DNA Kit で使用し、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ンストリームアプリケーションの前工程として使用されますが、ダウン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における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) で 10~15 分間、低速 (1900 x g) で遠心分離して ccfDNA の抽出前に細胞を除去します。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 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)。

「非安定化」ヒト尿

Buffer ATL が必要なプロトコルを始める前に、Buffer ATL に沈殿物がないか確認してください。必要に応じて、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ます。Buffer ATL の表面から気泡を吸引します。

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、別途注文する必要があります。

尿サンプルは採取後、ただちに室温 (15~25°C)、低速 (1900 x g) で 10~15 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 µL の尿 (circDNA_1000_DSP)、2500 µL の尿 (circDNA_2000_DSP)、4500 µL の尿 (circDNA_4000_DSP)、6500 µL の尿 (circDNA_6000_DSP)、8500 µL (circDNA_8000_DSP)、または 10,500 µL (circDNA_10000_DSP) を、それぞれ 150 µL、250 µL、450 µL、650 µL、850 µL、1050 µL の Buffer ATL と混合します。

サンプルを室温 (15~25°C) で 1 時間インキュベートします。

サンプルを、室温 (15~25°C)、1900 x g で 10 分間遠心分離します。

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 の製品ページのリソースタブにある験器具リストをご覧ください)。

重要：非安定化尿では、ccfDNA の安定性と完全性は限定的です。尿サンプルのオンボード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のバッチ (1 つのバッチにつき 24 のサンプル) を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。
- ランを開始する前に、サンプルの温度を室温 (15~25°C) にする必要があります。

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連しています。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た場合の QIASymphony DSP Circulating DNA Kit について確立されています。ユーザーの実験室で使用する特定の検体の採取装置と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、ワークフロー全体を検証して適切な稼働条件を確立する責任はユーザーにあります。

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 (実行時間を含めて最長 16 時間、推奨環境条件：18~26°C および 20~75% の相対湿度) と、QIASymphony SP 内に溶出プレートが残ることになり、温度と湿度によっては、溶出により濃縮や蒸着が発生することがあります。

制限- 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、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
	この製品は、体外診断用医療機器に関する欧州規則 2017/746 の要件を満たしています。
	体外診断用医療機器
	カタログ番号
	R は使用説明書の改訂を示し、n は改訂番号を示す
	製造元

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">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。
R2、2023年1月	バージョン 2、改訂 2 <ul style="list-style-type: none">サンプル量 1 ml 用の BioScript を追加するための更新 (circDNA 1000DSP)circDNA_2000 および circDNA_4000 を V3 に更新
R3、2024年6月	<ul style="list-style-type: none">ドキュメントのバージョンは改訂履歴から削除されましたQIAsymphony DSP Circulating DNA Maxi Kit (192) および QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit (96) を追加しましたcircDNA_1000 を V2 にアップデートし、circDNA_2000 と circDNA_4000 を V4 にアップデートしました6 mL、8 mL、10 mL のサンプル容量用の BioScript を追加しました (circDNA 6000 DSP、circDNA 8000 DSP、circDNA 10000 DSP)

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 キットハンドブックとユーザーマニュアルは www.qiagen.com から入手できます。または、QIAGEN テクニカルサービスやお近くの代理店にご依頼ください。

このページは意図的に空白のままにしています

商標：QIAGEN®、Sample to Insight®、QIASymphony®（QIAGEN グループ）。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。

06/2024 HB-3034-S02-003 © 2024 QIAGEN, all rights reserved.