

# QIAsymphony<sup>®</sup> DSP Circulating DNA Kit 使用説明書 (ハンドブック)

**IVD**

体外診断用

	$\Sigma$	<b>REF</b>	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**

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

R3 **MAT**

1133891JA

# 目次

使用目的 .....	4
対象とする使用者 .....	4
説明と原理 .....	5
概要と説明 .....	7
キットに含まれる材料 .....	8
キットの内容 .....	8
キット以外に必要な材料 .....	10
追加の試薬 .....	10
消耗品 .....	10
器具 .....	11
プロトコールおよび実験器具 .....	11
警告と注意 .....	12
安全情報 .....	12
緊急時の連絡先 .....	13
注意 .....	14
廃棄 .....	16
試薬の保管と取り扱い .....	17
使用時の安定性 .....	17
検体の採取、保管、および取り扱い .....	18
手順 .....	19
QIAsymphony SP を使用した自動精製 .....	19
プロトコール：循環無細胞 DNA の精製 .....	24
品質管理 .....	29

制限事項 .....	29
性能特性 .....	30
トラブルシューティングガイド .....	31
図記号 .....	34
お問い合わせ先 .....	36
付録：循環無細胞 DNA の定量 .....	37
発注情報 .....	38
文書変更履歴 .....	40

## 使用目的

QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit は、磁性粒子技術を利用して、生体試料からヒト循環無細胞 DNA を自動分離および精製します。

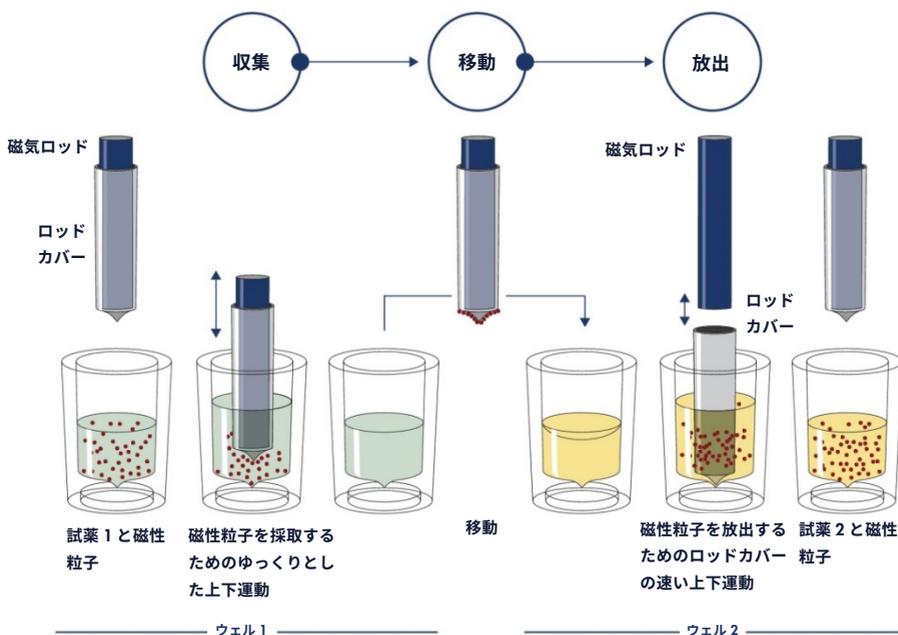
QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit は、体外診断用です。

## 対象とする使用者

この QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit は、分子生物学技術について訓練を受けた技師や医師などの専門家による使用を目的としています。

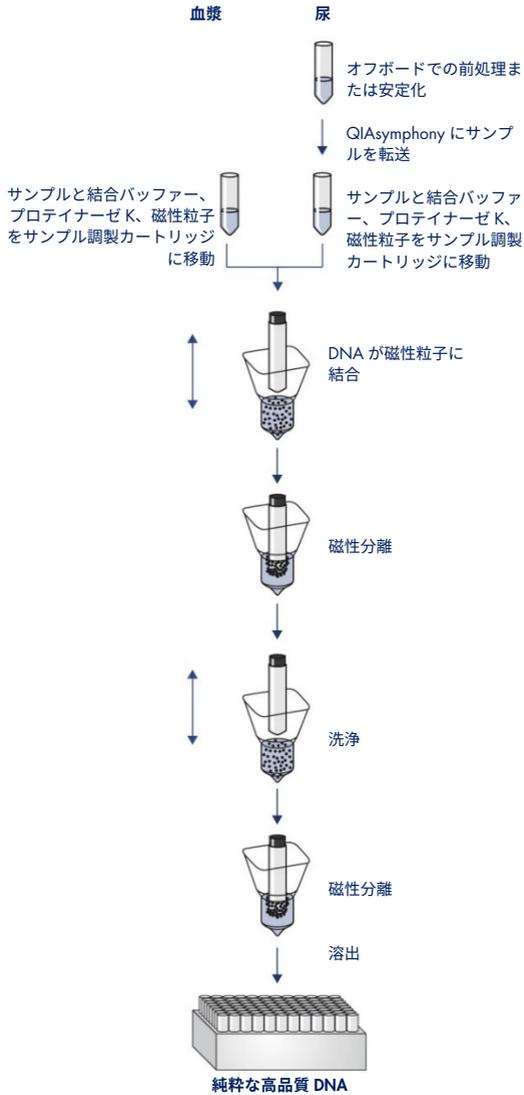
## 説明と原理

QIASymphony 技術は、陰イオン交換を利用した核酸精製の迅速性と効率と、磁性粒子の取り扱いやすさを合わせて備えています（下の図 1）。精製手順は、感染性のおそれがあるサンプルの取り扱いにおいて安全性と再現性が確保されるように設計されており、結合、洗浄、溶出の 3 ステップで構成されています（6 ページのフローチャート参照）。量は、さまざまなサンプルインプット量から選択できます。



**図 1. QIASymphony SP 原理の概略図。** QIASymphony SP は、磁性粒子を含むサンプルを次のように処理します：ロッドカバーで保護されている磁気ロッドが、サンプルを含むウェルの中に入り、磁性粒子を引き付けます。磁気ロッドカバーは別のウェルの上に位置し、磁性粒子が放出されます。サンプル処理中、このステップを数回繰り返します。QIASymphony SP は、24 本の磁気ロッド列を含む磁気ヘッドを使用しているため、最大 24 個のサンプルを同時に処理できます。

## QIAsymphony DSP Circulating DNA の手順



## 概要と説明

循環細胞フリーDNA (circulating cell-free nucleic acids、ccfNA) は、血漿または尿中に通常短い断片、<1000 bp (DNA) および<1000 nt (RNA) として存在します。血漿や尿などの体液中の ccfNA の濃度は通常低く、個人間でかなり異なります。ccfNA の濃度は 1～100 ng/mL の範囲になります。QIAsymphony DSP Circulating DNA システムはすぐに使用できる in vitro システムを構成しており、QIAsymphony SP 機器を使用して、ヒト血漿と尿からヒト循環無細胞 DNA (circulating cell-free DNA、ccfDNA) を定性的に精製します。

QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit には、ヒト血漿と尿からヒト ccfDNA を完全自動化同時精製するための試薬が同梱されています。すべての血液採取チューブの性能特性が確立されているわけではなく、ユーザーが検証する必要があります。磁性粒子テクノロジーではタンパク質、ヌクレアーゼ、その他不純物を含まない高品質の核酸精製が可能です。精製した ccfDNA は、幅広いダウンストリームアプリケーションに適合します。QIAsymphony SP は、精製手順の全工程を実行します。1回のランで、24 バッチ、最大 96 個のサンプルを処理できます。尿サンプルには、手動のサンプル前処理が必要な場合があります。

# キットに含まれる材料

## キットの内容

略称	品目	数量		
RC <b>REAG</b> <b>CART</b>	試薬カートリッジ*	2	2	2
PROTK <b>PROTK</b>	QIAGEN Proteinase K (QIAGEN プロテイナーゼ K)	3 x 10 mL <sup>†</sup>	6 x 10 mL	13 x 10 mL
PL	Piercing lid (ピアシング蓋)	2	2	2
RSS	Reuse Seal Set (リユースシールセット) ‡	2	2	2
	使用説明書 (ハンドブック)	1	1	1

\* 保存料としてアジ化ナトリウムを含む。

<sup>†</sup> 合計 96 個のサンプルを処理するには、サンプル容量 6 mL、8 mL、10 mL のプロテイナーゼ K ボトルを追加で注文する必要があります (追加の試薬のポイントを参照)。

<sup>‡</sup> Reuse Seal Set には、リユースシールストリップが 8 個入っています。

## キットに含まれるコンポーネント

キットの主要なコンポーネントと有効成分を以下に説明します。

試薬	コンポーネント	濃度 (w/w) [%]*
RC (試薬カートリッジ)	非イオン性洗剤	$\geq 0.5 \sim < 10$ [w/w]
	陰イオン交換磁性粒子	該当なし
	NaOH	$\geq 0.05 \sim < 0.1$ [w/w]
	エタノール	$\geq 70 \sim < 90$ [v/v]
QIAGEN Proteinase K (QIAGEN プロテイナーゼ K)	プロテイナーゼ K	$\geq 1 \sim < 3$ % [w/w]

\* シングルウェルでの最大濃度。

## コントロールとキャリブレーター

診断結果に悪影響が及ぶリスクを最小限に抑えるため、ダウンストリームアプリケーションを適切に管理する必要があります。

## キット以外に必要な材料

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。詳しい情報は、製品の供給元が用意する適切な安全データシート（Safety Data Sheets、SDS）を参照してください。

### 追加の試薬

- Buffer ATL（尿サンプル前処理用、カタログ番号 939016）
- QIASymphony DSP Circulating DNA Kit（96）で使用するための 6~10 mL サンプル容量のプロテイナーゼ K（カタログ番号 19134）
- リン酸緩衝生理食塩水（Phosphate-buffered Saline、PBS。サンプル量の補充に必要な場合があります）

プロテイナーゼ K の必要な注文量については、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにあるプロトコルシートを参照してください。

尿サンプルの前処理と安定化に必要な追加情報については、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにあるプロトコルシートをご覧ください。

### 消耗品

- Sample Prep Cartridges、8-well カートリッジ（カタログ番号 997002）
- 8-Rod Covers（カタログ番号 997004）
- Filter-Tips、200  $\mu$ L（カタログ番号 990332）および 1500  $\mu$ L（カタログ番号 997024）
- サンプルチューブ。適合する一次および二次チューブのフォーマットについては、[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。
- 溶出チューブまたはプレート。適合する溶出チューブとプレートのフォーマットについては、[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。

- 調整可能ピペット用ピペットチップ（クロスコンタミネーションを防ぐため、エアロゾルバリア付きピペットチップの使用を強く推奨します）

## 器具

使用開始前に、装置が製造者の推奨に従って点検され、キャリブレーションされていることを確認してください。

- QIASymphony SP（カタログ番号 9001297）
- ボルテックスミキサー
- ピペット（調節可能）

## プロトコールおよび実験器具

ハンドブックの横にある使用説明書は、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにあるプロトコールシート、実験器具リスト、性能特性で構成されています。

## 警告と注意

デバイスに関連して発生した重大なインシデントを、製造者および/またはその権限を有する代表者、およびユーザーや患者を規定する規制当局に報告するときは、現地の規制を照会しなければならない場合がありますのでご注意ください。

### 体外診断用

キットを使用する前に、すべての説明を注意してお読みください。

次の残留リスクにご注意ください。

- サンプル ID は手動でも入力できます（詳細は、QIAsymphony SP ユーザーマニュアルを参照してください）。手動で誤った ID データが入力されると、サンプルと患者の間に誤った相関関係が発生する可能性があります。

## 安全情報

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。詳細は、適切な安全データシート（Safety Data Sheets、SDS）を参照してください。SDS は、[www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) からオンラインで、便利で容量の小さい PDF 形式で入手できます。このサイトでは、QIAGEN キットおよびキットコンポーネントの SDS を検索、表示、印刷することができます。

- すべての化学物質と生物学的物質は、潜在的に有害です。サンプルは感染の可能性があり、現地の安全手順に従って取り扱い、廃棄する必要があります。

- QIAGEN は、QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit の手順で生成された液体廃棄物について、感染性物質の有無に関する検査は行っていません。したがって、本製品を取り扱う際には、感染の可能性のあるヒト由来物質を取り扱うための一般的な予防措置（手袋、白衣、目の保護具）を講じる必要があります。また、液体廃棄物は感染性があるとみなし、地域の安全規則に従って取り扱い、廃棄する必要があります。
- 試薬カートリッジのバッファーにはアジ化ナトリウムが含まれています。このキットのバッファーをこぼした場合は、適切な実験室用洗浄剤と水で洗浄してください。こぼれた液に感染病原体が含まれる可能性がある場合は、まず汚染された部分を実験用洗浄剤と水で洗浄し、その後次亜塩素酸ナトリウムの 1% (v/v) 水溶液で洗浄してください。

<p><b>警告</b></p> 	<p><b>人身傷害の危険</b></p> <p>サンプル調製廃棄物に直接、漂白剤や酸性溶液を混ぜないでください。</p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------

## 緊急時の連絡先

CHEMTREC

米国およびカナダ：1-800-424-9300

米国およびカナダ以外の国 +1 703-527-3887

## 注意

次のハザードおよび警告の表示は、QIASymphony DSP Circulating DNA Kit のコンポーネントに適用されます。

### MBS3

Sodium azide

含有物質：アジ化ナトリウム飲み込むと有害のおそれ。体調の異常を感じる場合、毒物センターに電話するか、医師の診察を受けてください。

## プロテイナーゼ K



含有物質：プロテイナーゼ K。危険！軽度の皮膚刺激。吸入すると、アレルギーやぜんそくの症状や呼吸困難を引き起こす可能性があります。粉塵、煙、ガス、ミスト、蒸気、噴霧を吸入しないこと。内容物、容器は認可された廃棄物処理工場で廃棄してください。呼吸に関連する症状がみられる場合は、中毒センター、または医師に連絡してください。吸入した場合：呼吸が困難な場合、被害者を風通しのよい場所に移し、呼吸が楽になる体位にして安静にします。呼吸器用保護具を装着してください。

QSW9



含有物質：エタノール。危険！重度の眼刺激。高度可燃性の液体および蒸気。内容物、容器は認可された廃棄物処理工場で廃棄してください。目の刺激が継続する場合は、医師の診察を受けてください。熱、火花、裸火、高温の表面から遠ざけてください。一禁煙。換気の良い場所に保管してください。低温を維持してください。防護用手袋、防護服、目および顔面の保護具を使用してください。

## 廃棄

廃棄物にはサンプルおよび試薬が含まれます。廃棄物には毒性物質または感染性物質が含まれていることがあるため、適正に廃棄しなければなりません。適正な廃棄手順については、現地で定められている安全規制を参照してください。

詳細は、適切な安全データシート（Safety Data Sheets、SDS）を参照してください。これらは、オンラインで、[www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) から PDF 形式で入手できます。このサイトでは、各 QIAGEN キットとキットのコンポーネントの SDS を検索、表示、印刷できます。

# 試薬の保管と取り扱い

箱に印刷されている有効期限と保管条件に注意してください。期限切れのコンポーネントや、不適切な方法で保管したコンポーネントは使用しないでください。

QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit は、垂直にして室温（15～25℃）で保存してください。15℃ 未満の温度で保管すると、バッファー中に沈殿物が形成される可能性があります（24 ページ「使用開始前の重要事項」を参照）。

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。

適切に保存すれば、キットは箱に記載されている有効期限まで安定した状態を保ちます。

**注釈：**QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit の箱のラベルには、キットの有効期限が表示されています。結果のファイルには、試薬カートリッジのみの有効期限が記載されています。

## 使用時の安定性

一部使用した試薬カートリッジは、室温（15～25℃）で直立して最大 4 週間保管できるため、試薬を経済的に再利用でき、サンプル処理をより柔軟に行えます。試薬カートリッジを一部使用した場合、磁性粒子を含む槽のカバーを交換し、プロトコールラン終了直後、蒸発を避けるために、試薬カートリッジを同梱のリユースシールストリップ（RSS）で密封してください。

試薬の蒸発を避けるため、試薬カートリッジを開封しておくのは、最高環境温度 32℃、最長 15 時間（ランタイムを含む）としてください。キットコンポーネントの不適切な保管は、バッファーの劣化を加速させる可能性があります。

少ないサンプル数（<24）でバッチをランすると、試薬カートリッジ（RC）を開封しておく時間と必要なバッファー容量が増え、カートリッジ当たりの可能なサンプル調製合計数が少なくなるおそれがあります。

試薬カートリッジの紫外線への暴露（除染用など）を避けてください。暴露により、試薬カートリッジやバッファーの劣化が加速する可能性があります。

## 検体の採取、保管、および取り扱い

**注釈：**検体の安定性と核酸抽出のパフォーマンスは、検体採取装置と方法、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、特定の下流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 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。

自動化手順（特定のプロトコールで使用できるサンプルチューブに関する情報を含む）、検体の保管、取り扱い、特定サンプルの前処理の詳細については、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにある該当するプロトコールシートと実験器具リストをご覧ください。

# 手順

## QIASymphony SP を使用した自動精製

QIASymphony SP では、自動サンプル調製を容易かつ便利に行えます。サンプル、試薬、消耗品、および溶出液は別々のドロワーに分かれています。ランの前に適切なドロワーに、サンプル、特別なカートリッジに入った試薬、プレラック消耗品をロードするだけです。プロトコールを開始して、処理後に「Eluate（溶出液）」ドロワーから精製 DNA を取り出します。操作の指示については、お使いの装置に同梱されているユーザーマニュアルを参照してください。

**注釈：**オプションのメンテナンスは、装置の機能のために必須ではありませんが、コンタミネーションリスクを軽減するために強く推奨されます。

利用できるプロトコールの範囲は継続して拡大しています。追加の QIAGEN プロトコールは、個々のキットのリソースタブにある [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) から無料でダウンロードできます。

### 試薬カートリッジを「Reagents and Consumables（試薬と消耗品）」ドロワーにロードする

DNA 精製用試薬は、試薬カートリッジに含まれています（図 2、20 ページ）。試薬カートリッジの各槽には、磁性粒子、結合バッファー、洗浄バッファー、溶出バッファーなどの特定の試薬が含まれています。一部使用した試薬カートリッジは、蒸発を防ぐためにリユースシールストリップで密閉し、再度必要になるまで保管することができます。「試薬の保管と取り扱い」（17 ページ）を参照してください。



**図 2. QIAasympy 試薬カートリッジ。** 試薬カートリッジには、プロトコルランに必要なすべての試薬が含まれています。

手順を始める前に試薬カートリッジを試薬カートリッジホルダー内にセットします。試薬カートリッジを初めて使用する前に、試薬カートリッジの上にピアシング蓋 (PL) をセットします (図 2)。

**注釈：**ピアシング蓋は尖っています。試薬カートリッジ上にセットする際は注意してください。ピアシング蓋は、必ず試薬カートリッジに正しい向きにセットし、軽く押し下げ、カチッと音がするまで所定の位置まで押し下げます。RC は QIAasympy SP 機器によって貫通されます。

使用する前に、試薬カートリッジのフレームから磁性粒子槽を取り外し、3 分間以上、磁性粒子が完全に再懸濁するように勢いよくボルテックスしてから再度、試薬カートリッジフレームにセットします。

**注釈：**磁性粒子は色が変わられます。これは性能には影響を与えません。

一部使用した RC を使用する場合は、必ずリユースシールストリップを取り外してください。

磁性粒子槽のホイールまたはカバーを取り外し、その後試薬カートリッジを「Reagents and Consumables（試薬と消耗品）」ドロワーにロードします。

**注釈：**プロテイナーゼ K は、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにあるプロトコールシートに記載されている情報に従って追加する必要があります。

## プラスチック製品を「Reagents and Consumables（試薬と消耗品）」ドロワーにロードする

サンプル調製カートリッジ、8-Rod Covers（いずれもユニットボックスにプレラック済み）、使い捨てフィルターチップ（200 µl チップはブルーラックに、1500 µl チップはブラックラックに入った状態で同梱）を「Reagents and Consumables（試薬と消耗品）」ドロワーにロードします。

**注釈：**ユニットボックスを「Reagents and Consumables（試薬と消耗品）」ドロワーにロードする前に、ユニットボックスのカバーが取り外されていることを確認してください。

**注釈：**チップには、クロスコンタミネーションを防ぐのに役立つフィルターが付いています。

QIAsymphony SP ワークテーブルのチップラックスロットには、どちらかの種類のチップラックを入れることができます。QIAsymphony SP は、在庫スキャンの間にロードされたチップの種類を識別します。

**注釈：**次のプロトコールランを開始する前に、サンプル調製カートリッジまたは 8-Rod Covers 用のチップラックやユニットボックスを詰め替えないでください。QIAsymphony SP では、一部使用したチップラックやユニットボックスが使用できます。

必要な消耗品については、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにある該当するプロトコールシートをご覧ください。プラスチック製品の注文情報については、38 ページを参照してください。

## 「Waste (廃棄物)」ドロワーにロードする

ランで使用したサンプル調製カートリッジと 8-Rod Covers は、「Waste (廃棄物)」ドロワー内の空のユニットボックスにリラックされます。「Waste (廃棄物)」ドロワーに、プロトコールランで発生するプラスチック廃棄物のために十分な空のユニットボックスが備わっていることを確認してください。

**注釈：**ユニットボックスを「Waste (廃棄物)」ドロワーにロードする前に、ユニットボックスのカバーが取り外されていることを確認してください。使用済みのサンプル調製カートリッジと 8-Rod Covers の回収に 8-Rod Cover ボックスを使用する場合、ボックススペーサーが取り外されていることを確認してください。

使用済みのフィルターチップ用のバッグを「Waste (廃棄物)」ボックスの前面に取り付けてください。

**注釈：**チップ廃棄バッグがあるかどうかは、システムによってチェックされません。プロトコールランを開始する前に、チップ廃棄バッグが適正に取り付けられていることを確認してください。詳細については、お使いの機器と同梱のユーザーマニュアルを参照してください。チップの詰まりを避けるため、最大 96 個のサンプルを処理した後はチップバッグを空にしてください。

廃棄物容器には、精製作業中に発生する廃液が収集されます。「Waste (廃棄物)」ドロワーは、廃棄物容器が所定の位置にある場合にのみ閉じることができます。廃液は、現地のおよび環境に関する規制に従って廃棄してください。満タンの廃液ボトルをオートクレーブしないでください。最大 96 個のサンプルを処理した後は廃液ボトルを空にしてください。

## 「Eluate (溶出液)」ドロワーにロードする

必要な溶出ラックを「Eluate (溶出液)」ボックスにロードします。「Eluate (溶出液)」ドロワーに溶出液を長期間保管すると蒸発や凝縮の可能性があるため、冷却位置を使用する必要があります。対応した冷却アダプターが付いた「Elution slot 1 (溶出スロット 1)」のみを使用してください。

## 在庫スキャン

ランを開始する前に、装置は、待機中のバッチに十分な消耗品が該当するドロワー内にロードされているか確認します。

## サンプル材料の調製

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit は、ヒト血漿および尿からヒト循環無細胞 DNA を自動精製するように設計されています。

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。サンプル表面に泡があると、ピペットで正しいサンプル量を採取できないことがあります。出発物質によっては、サンプルの前処理が必要な場合があります。ランを開始する前に、サンプルの温度を室温（15～25℃）にする必要があります。

自動化手順（特定のプロトコールで使用できるサンプルチューブに関する情報を含む）および特定のサンプル前処理の詳細については、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにある該当するプロトコールシートと実験器具リストをご覧ください。

## DNA を保存

**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 QS 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。

精製した核酸の保存条件および期間は、使用する検体の種類によって異なります。

# プロトコール：循環無細胞 DNA の精製

## プロトコール概要

表 1. プロトコール概要

サンプル	サンプル量 (µL)	溶出量 (µL)	QIASymphony SP プロトコール
血漿、尿	1000	60	circDNA_1000_DSP
血漿、尿	2000	60	circDNA_2000_DSP
血漿、尿	4000	60	circDNA_4000_DSP
血漿、尿	6000	60	circDNA_6000_DSP
血漿、尿	8000	60	circDNA_8000_DSP
血漿、尿	10,000	60	circDNA_10000_DSP

詳細情報は、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにあるプロトコールシートと実験器具リストをご覧ください。

QIASymphony DSP Kit を用いる一般的なプロトコールを以下に示します。量とチューブを含む各プロトコールの詳細情報は、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにあるプロトコールシートと実験器具リストに記載されています。

## 開始する前の重要な留意点

- キットを受け取ったら、キットのコンポーネントに損傷がないことを確認してください。破損したキットコンポーネントは使用しないでください。使用すると、キットのパフォーマンスが低下したり、ユーザーの負傷、機器の損傷を招くおそれがあります。
- 必ず、QIASymphony SP の操作に習熟しておいてください。操作の指示については、お使いの装置に同梱されているユーザーマニュアルを参照してください。
- オプションのメンテナンスは、装置の機能のために必須ではありませんが、コンタミネーションリスクを軽減するために強く推奨されます。

- 手順を始める前に、5 ページから始まる「説明と原理」をお読みください。
- 必ず、使用する手順に対応するプロトコルシートに習熟しておいてください。（プロトコルシートは、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにあります。）
- 試薬カートリッジを激しく振らないでください。泡が発生して液面レベルの検出の問題につながるおそれがあります。
- QIAGEN の品質管理手順では、個々のキットロットごとに機能キットリリーステストを実施しています。したがって、異なるキットロットの試薬を混ぜたり、異なる試薬ロットの個々の試薬を組み合わせたりしないでください。
- Buffer ATL が必要な前処理を始める前に、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沈殿物を溶解します。\*Buffer ATL の表面から気泡を吸引してください。

## 開始する前に

- 手順を開始する前に、磁性粒子が完全に再懸濁していることを確認してください。使用前に、磁性粒子を含む槽を3分間上勢よくボルテックスします。
- ピアシング蓋が試薬カートリッジにセットされ、磁性粒子槽の蓋が取り外されていることを確認してください。一部使用した試薬カートリッジを用いる場合は、リユースシールストリップが取り外されていることを確認してください。
- プロテイナーゼ K は試薬カートリッジには含まれておらず、ユーザーが用意する必要があります（サンプルドロー、スロット A、位置 1、2、3）。適正なプロテイナーゼ K 容量があることを確認してください。（詳細情報は、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにあるプロトコルシートをご覧ください）。
- サンプルにバーコードが付いていれば、バーコードが QIASymphony SP の左側のバーコードリーダーに面するように、チューブキャリアのサンプルを向けてください。
- 特定のプロトコルに適合するサンプルチューブについては、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにある該当する実験器具リストをご覧ください。

\* 装置が、製造元の指示に従って定期的に点検、メンテナンス、キャリブレーションされていることを確認してください。

- 二次チューブの最低サンプル量については、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにある対応する実験器具リストをご覧ください。

## 手順

1. すべてのボックスとフードを閉じます。
2. QIASymphony SP の電源を入れ、**Sample Preparation**（サンプル調製）画面が表示されて初期化手順が完了するまで待ちます。

電源スイッチは QIASymphony SP の下部の左隅にあります。

3. 装置にログオンします。
4. 必要な溶出ラックを「Eluate（溶出液）」ボックスにロードします。

96 ウェルプレートを「Elution slot 4（溶出スロット 4）」にロードしないでください。対応した冷却アダプターが付いた「Elution slot 1」（溶出スロット 1）を使用してください。

96 ウェルプレートを使用する際に、プレートの向きが正しいことを確認してください。正しく置かれていないと下流での解析でサンプルが混同するおそれがあります。

Elution Microtubes CL ラックを使用する際は、底が外れるまでラックをひねって取り外します。

5. 「Waste（廃棄物）」ドロワーが適正に準備されていることを確認し、チップシュートや廃液を含め、「Waste（廃棄物）」ドロワーの在庫スキャンを実施します。必要に応じてチップ廃棄バッグを交換してください。
6. 必要な試薬カートリッジと消耗品を「Reagents and Consumables（試薬と消耗品）」ドロワーにロードします。
7. 「Reagents and Consumables（試薬と消耗品）」ドロワーの在庫スキャンを実施します。
8. サンプルを適切なサンプルキャリアにセットして、「Sample（サンプル）」ドロワーにロードします。

**注釈：**液面レベルを正しく検出するために、チューブキャリア（インサートを使用する場合はインサート）の底までチューブを押し込んでください。

9. タッチスクリーンを使用して、処理するサンプルの各バッチとプロテイナーゼ K の必要な情報を入力します。

以下の情報を入力します。

- サンプルの情報（使用するサンプルラックに応じて）
- ランを行うプロトコール（Assay Control Set）
- 溶出量および出力ポジション

バッチの情報を入力すると、ステータスが LOADED（ロード済み）から QUEUED（待機中）に変わります。1 つのバッチが待機になるとすぐに、Run（ラン）ボタンが表示されます。

10. プロテイナーゼ K を 1、2、3 の位置の適切なサンプルキャリアにセットして、「Sample（サンプル）」ドロワーのスロット A にロードします。

11. IC ボタンを押してプロテイナーゼ K を定義します。

12. Run（実行）ボタンを押して、精製手順を開始します。

すべての処理ステップは全自動化されています。プロトコールランが終了すると、バッチのステータスが RUNNING（実行中）から COMPLETED（完了）に変わります。

13. 精製した核酸を含む溶出ラックを「Eluate（溶出液）」ボックスから取り出します。

14. DNA はすぐに使用または保存できる状態です。

解析が完了したらただちに、「Eluate（溶出液）」ボックスから溶出プレートを取り出すことをお勧めします。ラン完了後に QIAsymphony SP 内に溶出プレートを残しておく、温度と湿度によっては、濃縮や蒸発が生じる可能性があります。

一般的に、磁性粒子は溶出液にキャリアオーバーされません。キャリアオーバーが起きた場合、溶出液中の磁性粒子はほとんどのダウンストリームアプリケーションに影響しません。

ダウンストリームアプリケーションを実行する前に磁性粒子を除去する必要がある場合は、溶出液を含むチューブまたはプレートを最初に適切な磁石の上に配置し、溶出液を清潔なチューブに移す必要があります（「トラブルシューティングガイド」、31 ページ参照）。

結果ファイルは各溶出プレートについて生成されます。

15. 試薬カートリッジ を一部しか使用しなかった場合、蒸発を避けるため、プロトコール終了後に同梱のリユースシールストリップで密封します。

**注釈：**一部使用済みの試薬カートリッジの保管の詳細については、「試料の保管と取り扱い」（17 ページ）を参照してください。

16. 使用済みのサンプルチューブは現地の安全規制に従って廃棄してください。  
安全情報については、「警告と注意事項」（12 ページ）をご覧ください。

17. QIA Symphony SP を洗浄します。

お使いの機器と同梱のユーザーマニュアルに記載されているメンテナンス指示に従ってください。チップガードを定期的に洗浄し、クロスコンタミネーションのリスクを最小限に抑えてください。

18. 装置のボックスを閉じて、QIA Symphony SP の電源を切ります。

## 品質管理

QIAGEN の ISO 認証済み品質管理システムにしたがい、一貫した製品品質を保証するため、QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit の各ロットは既定の仕様に対してテストされています。

## 制限事項

システムの性能は、ヒト血漿と尿からヒト ccfDNA を精製する性能評価研究により確立されました。血液は、ccfDNA プロファイル安定剤を含まない血液採取チューブ（EDTA チューブ）と、ccfDNA プロファイル安定剤を含む血液採取チューブ（PAXgene® Blood ccfDNA Tube、PreAnalytiX、Cell-Free DNA BCT®、Streck®）で採取しました。

ユーザーの実験室で使用される QIAGEN の性能評価試験の対象外の手順については、システム性能を検証する責任はユーザーにあります。

診断結果に悪影響が及ぶリスクを最小限に抑えるため、ダウンストリームアプリケーションを適切に管理する必要があります。さらなるバリデーションには、医薬品規制調和国際会議（ICH）のガイドライン ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology（解析手順のバリデーション：テキストと方法）が推奨されます。

得られるすべての診断結果は、他の臨床所見や実験室所見を併用して解釈する必要があります。

制限事項については、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにある該当するプロトコールシートをご覧ください。

## 性能特性

性能特性については、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブをご覧ください。

# トラブルシューティングガイド

このトラブルシューティングガイドは、何らかの問題が発生した際にお役立てください。詳細については、当社のテクニカルサポートセンターの「よくある質問」のページ：[www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx) も参照してください。QIAGEN テクニカルサービスの専門チームは、このハンドブックに掲載している情報やプロトコールに加え、サンプルやアッセイの技術についてのご質問にお答えしています（連絡方法については、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) をご参照ください）。

## コメントと推奨事項

### 取り扱い全般

エラーメッセージがタッチスクリーンに表示されます      プロトコールラン中にエラーメッセージが表示される場合、お使いの装置に同梱されているユーザーマニュアルを参照してください。

### QIAsymphony DSP キットの開封済みカートリッジの試薬槽に沈殿物

- a) バッファの蒸発      過剰な蒸発は、バッファ内の塩濃度の上昇を招くおそれがあります。試薬カートリッジを廃棄してください。精製に使用しないときは、一部使用した試薬カートリッジのバッファ槽は、必ずリユースシールストリップで密封してください。
- b) 試薬カートリッジの保存状態      試薬カートリッジを 15°C 未満で保存すると、沈殿物が生成される場合があります。

### 低 DNA 収量

- a) 磁性粒子が完全に再懸濁していなかった      作業を開始する前に、磁性粒子が完全に再懸濁していることを確認してください。使用前に少なくとも 3 分間ボルテックスしてください。
- b) ピペットチップの不溶性物質による詰まり      QIAsymphony 精製手順の開始前に、サンプルから不溶性物質が除去されていませんでした。  
必要に応じて、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) の製品ページのリソースタブにある該当するプロトコールシートに記載されている前処理手順を使用します。
- c) サンプル材料に低濃度の ccfDNA が含まれている      サンプル材料中の ccfDNA の量が非常に少ないため、使用する定量方法によっては DNA 濃度を検出できない場合があります。  
溶出液中の DNA 濃度をチェックするには、高感度 qPCR の使用をお勧めします。
- d) 試薬カートリッジの再密封が不完全      周囲空気と接触すると、バッファの安定性が低下し、部分的に使用した試薬カートリッジを用いた ccfDNA 抽出の効率が低下を招くおそれがあります。精製に使用しないときは、一部使用した試薬カートリッジのバッファ槽を、必ずリユースシールストリップで慎重に密封してください。

## コメントと推奨事項

- e) 非安定化尿サンプル中の ccfDNA の急速な分解
- サンプル採取後の非安定化尿サンプルでは ccfDNA が急速に分解するため、溶出液中の DNA 濃度を検出できない可能性や検出濃度が低い可能性があります。対応するプロトコールシートに記載しているように、尿サンプルを安定させることをお勧めします。
- あるいは、対応するプロトコールシートに記載しているように、採取および遠心分離後、ただちに、装置で、尿サンプルを ATL 前処理し、続いて DNA 抽出を行います。

### サンプル移動なし/不完全なサンプル移動

- a) 間違ったサンプル量がロードされました
- circDNA\_1000\_DSP：サンプル量 1.2 mL 未満 (Sarstedt チューブ) と 1.4 mL 未満 (BD チューブ) をロードした場合、サンプルからエラーコード 140043 (enable less sample[少量サンプル有効化]) を報告するリスクが高くなります。サンプル量 0.7 mL 未満 (Sarstedt チューブ) と 0.9 mL (BD チューブ) をロードした場合、無効フラグリスクが高くなり、サンプル移動がなくなります。
- circDNA\_2000\_DSP：サンプル量 2.4 mL 未満をロードした場合、サンプルからエラーコード 140043 (enable less sample[少量サンプル有効化]) を報告するリスクが高くなります。1.4 mL 未満のサンプルをロードした場合、無効フラグリスクが高くなり、サンプル移動がなくなります。
- circDNA\_4000\_DSP：サンプル量 4.5 mL 未満をロードした場合、サンプルからエラーコード 140043 (enable less sample[少量サンプル有効化]) を報告するリスクが高くなります。3.6 mL 未満のサンプルをロードした場合、無効フラグリスクが高くなり、サンプル移動がなくなります。
- circDNA\_6000\_DSP：サンプル量 6.6 mL 未満をロードした場合、サンプルからエラーコード 140043 (enable less sample[少量サンプル有効化]) を報告するリスクが高くなります。5.9 mL 未満のサンプルをロードした場合、無効フラグリスクが高くなり、サンプル移動がなくなります。
- circDNA\_8000\_DSP：サンプル量 8.6 mL 未満をロードした場合、サンプルからエラーコード 140043 (enable less sample[少量サンプル有効化]) を報告するリスクが高くなります。7.8 mL 未満のサンプルをロードした場合、無効フラグリスクが高くなり、サンプル移動がなくなります。
- circDNA\_10000\_DSP：サンプル量 10.8 mL 未満をロードした場合、サンプルからエラーコード 140043 (enable less sample[少量サンプル有効化]) を報告するリスクが高くなります。9.9 mL 未満のサンプルをロードした場合、無効フラグリスクが高くなり、サンプル移動がなくなります。
- 対応する実験器具リストの説明に従って、正しいサンプル量をロードします。十分なサンプルがない場合は、サンプルをロードする前に、必要なサンプル量になるまでサンプルに PBS を追加します。
- b) サンプルチューブ内の気泡や泡
- サンプルやサンプルインプットチューブ内に気泡や泡があると、誤った液面レベルが検出され、不完全なサンプル移動を引き起こす可能性があります。サンプルチューブから気泡を取り除いてください。

## コメントと推奨事項

---

溶出液中に褐色のペレットが見える

溶出液へのビーズのキャリアオーバー

ビーズのキャリアオーバーが発生しても、溶出液中の磁性粒子はほとんどのダウンストリームアプリケーションに影響を与えません。

磁性粒子を除去する必要がある場合は、磁性粒子が分離するまで、DNA を含んだチューブを適切な磁性分離器にかけます。

適切な磁性分離器を利用できない場合は、DNA を含んだチューブをマイクロ遠心機で最大スピードで1分間遠心分離し、残っている磁性粒子をペレット化します。

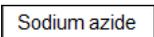
# 図記号

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
	<N>回の反応が可能な試薬が含まれています
	使用期限
	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
	ロット番号
	資材番号（コンポーネントラベリング）
	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
<b>Rn</b>	R は使用説明書の改訂を示し、n は改訂番号を示す

## 図記号

## 図記号の定義

	温度制限
	製造元
	使用説明書を参照
	警告／注意
	ウェル番号（試薬カートリッジウェル）
	アジ化ナトリウム
	エタノール
	機器固有識別子
	鋭いエッジ
	容量
	こちら側が上

## お問い合わせ先

テクニカルサポートおよび詳細については、弊社のテクニカルサポートセンター（[www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support)）にお問い合わせください。お電話（00800-22-44-6000）でもお問い合わせいただけます。またはQIAGENテクニカルサービス部門もしくは最寄りの販売代理店までお問い合わせください（お問い合わせ先については、本書の裏表紙または弊社ウェブサイト（[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)）をご覧ください）。

## 付録：循環無細胞 DNA の定量

サンプル材料中の ccfDNA の濃度が非常に低いため、分光光度計での DNA 測定はお勧めしません。循環無細胞 DNA の濃度を測定するには、高感度で正確な蛍光ベースの定量アッセイまたは PCR アッセイを使用する必要があります。

# 発注情報

製品	内容	カタログ番号
QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit	2つの試薬カートリッジとプロテイナーゼ K チューブおよび付属品を含みます	937556
QIAsymphony DSP Circulating DNA Maxi Kit (192)	2つの試薬カートリッジとプロテイナーゼ K チューブおよび付属品を含みます	937566
QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit (96)	2つの試薬カートリッジとプロテイナーゼ K チューブおよび付属品を含みます	937555
<b>関連装置</b>		
QIAsymphony SP	QIAsymphony サンプル精製モジュール	9001297
<b>関連製品</b>		
Buffer ATL (4 x 50 mL)	尿サンプル前処理用の 4 x 50 mL Buffer ATL	939016
Proteinase K (10 mL)	1 x 10 mL ボトル	19134
Reagent Cartridge Holder (2)	QIAsymphony SP で使用する試薬カートリッジホルダー	997008
Cooling Adapter, 2 mL, v2, Qsym	2 mL スクリューキャプチューブ用冷却アダプターQIAsymphony 「Eluate (溶出液)」 ドロワー用	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	EMT ラック用冷却アダプターQIAsymphony SP/AS 機器 (ソフトウェアバージョン 3.1 以降) で使用	9020730

製品	内容	カタログ番号
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	1.5 mL Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock チューブ用冷却アダプター。QIASymphony 「Eluate (溶出液)」 ドロワー用	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	QIASymphony SP で使用する 8 ウェルサンプル調製カートリッジ	997002
8-Rod Covers (144)	QIASymphony SP で使用する 8-Rod Covers	997004
Filter-Tips, 200 µL (1024)	使い捨てフィルターチップ、ラック入り；(8 x 128)。QIACube®および QIASymphony SP/AS 用	990332
Filter-Tips, 1500 µL, Qsym SP (1024)	使い捨てフィルターチップ、ラック入り；(8 x 128)。QIASymphony SP/AS 用	997024
Tip Disposal Bags (15)	QIASymphony SP/AS で使用する Tip disposal bags	9013395
Reuse Seal Set (20)	QIASymphony 試薬カートリッジを密封するための Reuse Seal Set	997006
Elution Microtubes CL (24 x 96)	非滅菌ポリプロピレンチューブ (最大容量 0.85 mL、保管容量 0.7 mL 未満、溶出容量 0.4 mL)。96 のラックに 2304。キャップストリップを含む	19588

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 キットの使用説明書をご覧ください。QIAGEN キットの使用説明書は、[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。

# 文書変更履歴

改訂	説明
	バージョン2、改訂1
R1、2022年6月	<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>キットに含まれる資材の更新（有効成分の追加）</li><li>警告と注意の更新</li><li>試薬の保管と取り扱いの更新</li><li>廃棄セクション追加</li></ul> トラブルシューティングガイドの更新（ビーズキャリアオーバーの追加）
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_1000_DSP）</li><li>トラブルシューティングガイドの更新</li></ul>
R3、2024年6月	<ul style="list-style-type: none"><li>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</li><li>QIASymphony DSP Circulating DNA Maxi Kit（192）およびQIASymphony DSP Circulating DNA Kit（96）を追加しました</li><li>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）</li></ul>

### QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit 限定ライセンス契約

本製品を使用することで、本製品の購入者またはユーザーは以下の条項に合意し、本契約を締結したものとみなされます。

1. 本製品は、本製品と共に提供されるプロトコルおよび本使用説明書のみに従って使用し、またパネルに含まれるコンポーネントのみを用いて使用するものとします。QIAGEN は、本製品と共に提供されるプロトコル、本使用説明書、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)に掲載されている追加プロトコルに説明されているものを除き、所有する知的財産の下、このパネルに含まれるコンポーネントをこのパネルに含まれていないコンポーネントと一緒に使用または組み込むためのライセンスを一切許諾しません。追加プロトコルには、QIAGEN のユーザーが QIAGEN の他のユーザーに提供しているものもあります。このようなプロトコルは QIAGEN による十分なテストや最適化が施されていません。QIAGEN はこれらを保証せず、また、これらが第三者の権利を侵害しないことを保証しません。
2. 明示されたライセンスを除き、QIAGEN は本パネル、その使用、またはこの両方が第三者の権利を侵害しないことを保証しません。
3. 本パネルとそのコンポーネントは 1 回の使用についてのみライセンスが許諾されるものであり、それらを再使用、改修、再販することはできません。
4. QIAGEN は明示的に言及されているものを除き、明示、黙示を問わず他のあらゆるライセンス許諾を明確に否認します。
5. 本パネルの購入者とユーザーは、上記の禁止事項に至る、またはこれを助長する可能性のある行為を行わず、また他者に対しかかる行為を許容しないことに同意します。QIAGEN は、本限定ライセンス契約の禁止事項の執行を法廷において強制することができます、本限定ライセンス契約の履行、あるいは本パネルやそのコンポーネントに関する知的財産権のあらゆる行使において、弁護士費用を含む調査と法廷に関わるすべての費用を回収するものとします。

最新の契約条項については、[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) を参照してください。

商標：QIAGEN®、Sample to Insight®、QIAsymphony®、PAXgene®、QIAcube® (QIAGEN Group) ; CellFree DNA BCT®、Streck® (Streck) ; Eppendorf® (Eppendorf AG) 。  
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。

June 2024 HB-3034-003 1133891 © 2024 QIAGEN, all rights reserved.