

QIAsymphony[®] DSP DNA Mini Kit

機器使用説明書（プロトコールシート）

VirusBlood200_V5_DSP プロトコール

バージョン 2



体外診断用医薬品

QIAsymphony DSP DNA Mini Kit（192）と使用



937236



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

R1

本プロトコールシートの電子版は、www.qiagen.com の製品ページのリソースタブ下にあります。

全般情報

QIAsymphony DSP DNA Kit は、体外診断用です。

このプロトコールは、QIAsymphony SP と QIAsymphony DSP DNA Mini Kit を使用し、ヒトの新鮮全血からウイルス DNA を精製するためのものです。放出されたウイルスおよび細胞内ウイルスから得たウイルス DNA を、血液細胞のゲノム DNA と同時に精製します。

キット	QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (カタログ番号: 937236)
サンプル材料	ヒト全血 (EDTA またはクエン酸抗凝固剤)
プロトコール名	VirusBlood200_V5_DSP
デフォルトのアッセイコントロールセット	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
変更可能なパラメータ	溶出量: 60、85、110、165 µl
必要なソフトウェアバージョン	バージョン 4.0 以降
体外診断用途に必要なソフトウェア構成	デフォルトプロファイル 1

キット以外に必要な資材

内部コントロール-Buffer ATE 混合物の調製

- 2 ml サンプルチューブ (Sarstedt®, カタログ番号 72.693、スカートなし)
- 2 ml サンプルチューブ (Sarstedt, カタログ番号 72.694、スカート付き)
- BD™ 14 ml Falcon polystyrene round-bottom tube (カタログ番号 352051)

「Sample」 (サンプル) ボックス

サンプルのタイプ	ヒト全血 (EDTA、クエン酸、またはヘパリン抗凝固剤)
サンプル量	使用するサンプルチューブによって異なります。詳細は、 www.qiagen.com の製品ページのリソースタブ下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	詳細は、 www.qiagen.com の製品ページのリソースタブ下にある実験器具リストをご覧ください。
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下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によって異なります。詳細は、 www.qiagen.com の製品ページのリソースタブ下にある実験器具リストをご覧ください。
その他	内部コントロール-Buffer ATE 混合物が必要です。内部コントロールの使用は任意です。

「Reagents and Consumables」 (試薬および消耗品) ボックス

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1~17	使い捨てフィルターチップ、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 が格納されたユニットボックス

該当なし = 該当せず。

「Waste」（廃棄物）ボックス

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	空の廃液ボトル

「Eluate（溶出液）」ボックス

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下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

プラスチック製品	1つのバッチ、 24 サンプル*	2つのバッチ、 48 サンプル*	3つのバッチ、 72 サンプル*	4つのバッチ、 96 サンプル*
Disposable filter-tips, 200 µl [†] *	26	50	74	98
Disposable filter-tips, 1500 µl [†] *	98	188	278	368
Sample prep cartridges [§]	21	42	63	84
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回の分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つの試薬カートリッジに対して在庫スキャンを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個のサンプル調製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：設定によっては、支給されたフィルターチップの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。

選択溶出量

選択溶出量 (µl) *	初回溶出量 (µl) †
60	90
85	115
110	140
165	195

* 溶出量はタッチスクリーンで選択します。これは溶出チューブで最終的に入手可能な最小の溶出量です。

[†] 初回溶出量は、実際の溶出量が選択した溶出量と等しくなるために必要な量です。

内部コントロール-Buffer ATE 混合物の調製

内部コントロールを使用する増幅システム VirusBlood200_V5_DSP プロトコルを使用するには、精製手順にその内部コントロールを取り入れて、サンプル調製およびダウンストリームアッセイの効率性を監視する必要がある場合があります。

内部コントロールの添加量は、アッセイシステムおよび VirusBlood200_V5_DSP プロトコルで選択する溶出量によって異なります。使用にあたり、計算およびバリデーションを実施してください。内部コントロールの最適な濃度は、ダウンストリームアッセイの製造者が提供する使用説明書を参照してください。

内部コントロールは、内部コントロール-Buffer ATE (ATE) 混合物に添加して合計 60 μ l にします。内部コントロールを添加することで、1つの溶出液で複数のパラメータを分析できます。使用にあたり、各種内部コントロールの使用可能性についてバリデーションを実施してください。各分析の直前に新しく混合物を調製することをお勧めします。内部コントロールを使用しない場合でも、Buffer ATE の使用が必要です。

選択溶出量 (μ l)	初回溶出量 (μ l)	内部コントロール量 (μ l) *	Buffer ATE (ATE) 量 (μ l)	サンプルあたり最終量 (μ l)
60	90	9	51	60
85	115	11.5	48.5	60
110	140	14	46	60
165	195	19.5	40.5	60

* 内部コントロール量は、初回溶出量に基づいて計算します。追加の空隙容積は、内部コントロール混合物に使用するサンプルチューブによって異なります。詳細は、www.qiagen.com にて実験器具リストをご覧ください。

注：表中の数字は、溶出液量 1 μ l あたり 0.1 μ l の内部コントロールを必要とするダウンストリームアッセイ向けに内部コントロール-Buffer ATE 混合物を調製するための値です。

内部コントロール-Buffer ATE 混合物を含むチューブをチューブキャリアに入れます。内部コントロール-Buffer ATE 混合物を含むチューブキャリアは、「Sample」（サンプル）ボックスのスロット A に配置する必要があります。

下表に記載のとおり、処理するサンプル数に応じて、2 ml チューブ（Sarstedt、カタログ番号 72.693 および 72.694）、または内部コントロールを希釈する場合は 14 ml チューブ、17 x 100 mm、ポリスチレン製、丸底型（BD、カタログ番号 352051）を使用することをお勧めします。2 本以上のチューブに分けることも可能です。

内部コントロール混合物量の計算

チューブのタイプ*	QIAasymplicity タッチスクリーン上の名称	チューブ 1 本あたりの内部コントロール混合物量
2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, skirted (Sarstedt、カタログ番号 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	(n x 60 μ l) + 360 μ l †
Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, non-skirted (Sarstedt、カタログ番号 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	(n x 60 μ l) + 360 μ l †
Tube 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (BD、カタログ番号 352051)	BD#352051 FalconPP 17 x 100	(n x 60 μ l) + 600 μ l ‡

* 必要なインサートは、www.qiagen.com の製品ページのリソースタブ下にある実験器具リストをご覧ください。

† この式を用いて必要な内部コントロール量を計算します (n = サンプル数、60 μ l = 内部コントロール-Buffer ATE 混合物量、360 μ l = チューブに必要な空隙容積)。たとえば 12 サンプルの場合 (n = 12)、(12 x 60 μ l) + 360 μ l = 1080 μ l となります。1.92 ml (最大 26 サンプル相当) を超える量をチューブに充填しないでください。26 サンプル以上を処理する場合は、追加のチューブを使用して空隙容積を確保してください。

‡ この式を用いて内部コントロール-Buffer ATE 混合物の必要量を計算します (n = サンプル数、60 μ l = 内部コントロール-Buffer ATE 混合物量、600 μ l = チューブあたり必要な空隙容積)。たとえば 96 サンプルの場合 (n = 96)、(96 x 60 μ l) + 600 μ l = 6360 μ l となります。

サンプル材料の調製

薬品を取り扱う際には、適切な白衣、使い捨て手袋、保護メガネを必ず着用してください。詳細は、製品の供給元が提供する適切な安全データシート (Safety Data Sheet, SDS) を参照してください。

採取、輸送、および保管に関する一般的な推奨事項は、CLSI 承認ガイドライン MM13-A 「Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods (分子生物学的手法のための検体の採取、輸送、調製、および保管)」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。

ヒト全血

ウイルス DNA の単離には、EDTA またはクエン酸で処理した全血サンプルを使用することをお勧めします。最長 7 日間の短期保存の場合、推奨される保存温度は 2~8°C です。長期保存の場合、-20°C の凍結アリコートで最長 3 ヶ月間、-80°C の凍結アリコートで最長 1 年間の保存が可能です。

注：サンプル安定性はさまざまな要素に大きく依存し、個々のダウンストリームアプリケーションとも関連性があります。QIASymphony DSP DNA Mini Kit は、一般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検証を実施済みですが、ラボで使用する個々の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するか、ワークフロー全体のバリデーション (またはその両方) を実施して、お客様の責任において適切な保存条件を確立してください。

一次チューブに新鮮な血液サンプルを使用する場合は、サンプルを十分に混合 (チューブを何回か逆さにするなど) してから QIASymphony SP に装填してください。凍結サンプルは、37°C のウォータバスで静かに攪拌しながら短時間で解凍して完全に混合し、室温 (15~25°C) に平衡化してから手順を実行してください。信頼性の高いサンプルを移すために、サンプルチューブ内に泡を生じさせないようにしてください。サンプル内の凝血を避け、必要であれば凝血を除去したサンプルを新しいチューブに移してください。

溶出液の保管

分析が終了したらすぐに、「Eluate」 (溶出液) ボックスから溶出プレートを取り外すことをお勧めします。分析の完了に一晩かかると (分析時間を含めて最長 12 時間、推奨環境条件：温度 18~26°C、相対湿度 20~75%)、溶出プレートが QIASymphony SP に残る場合があります。温度と湿度によっては、溶出により結露や蒸着が発生することがあります。

最長 7 日間の短期間、溶出液を保存する場合、精製した核酸の推奨保存温度は 2~8°C です。長期保存の場合、-20°C または -80°C で保存をお勧めします。

注：溶出液の安定性にはさまざまな要素が大きく影響し、個々のダウンストリームアプリケーションとも関連性があります。QIASymphony DSP DNA Mini Kit は、一般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検証を実施済みですが、ラボで使用する個々の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するか、ワークフロー全体のバリデーション (またはその両方) を実施して、お客様の責任において適切な保存条件を確立してください。

妨害物質





トリグリセリドを高濃度 (> 30 g/l) で含む血液サンプルは、ゲノム DNA 収量の低下につながる可能性があります。

注：一般的なダウンストリームアプリケーションを使用した試験により、抽出された核酸の品質評価を実施済みです。ただし、ダウンストリームアプリケーションによって要求される純度（潜在的な妨害物質の有無）が異なる可能性があることから、ダウンストリームアプリケーションにおいて QIAasymphony DSP DNA Mini Kit を使用するワークフローを開発する場合は、該当する物質の同定および試験を実施する必要があります。

注：ISO 20186-2:2019(E)によると、採血チューブに含まれるヘパリンは単離した核酸の純度に影響を及ぼす可能性があります。また、一部のダウンストリームアプリケーションでは、溶出液へのキャリアオーバーが発生して妨害物質になる可能性があります。したがって、血漿の調製には、EDTA またはクエン酸で抗凝固処理した血液サンプルを使用することをお勧めします。

図記号

本書では次の図記号を使用しています。本使用説明書、パッケージ、およびラベルに使用されるすべての図記号については、ハンドブックをご覧ください。

図記号	図記号の定義
	この製品は、体外診断用医療機器規則(EU)2017/746 に準拠しています。
	体外診断用医療機器
	カタログ番号
Rn	R は使用説明書の改訂を示し、n は改訂番号を示す。
	製造者

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「キット以外に必要な資材」のセクションを追加「妨害物質」のセクションを追加「溶出液の保管」のセクションを追加「図記号」のセクションを追加「サンプル材料の調製」のセクションを更新

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 Kit ハンドブックとユーザーマニュアルは、弊社ウェブサイト (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販売代理店からも入手可能です。

商標：QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™ (Becton Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). 本文中で使用され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あっても、法的保護の対象から外れることはありません。

06/2022 HB-3029-S06-001 © 2022 QIAGEN、無断複写・転載を禁じます。