

QIAsymphony® DSP Circulating DNA Kit Gebrauchsanweisung (Protokollblatt)

circDNA_1000_DSP_V1, circDNA_2000_DSP_V3 und circDNA_4000_DSP_V3

Version 2



In-vitro-Diagnostikum

Zur Verwendung mit dem QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit



937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Deutschland

R2

Das Protokollblatt ist elektronisch abrufbar und kann unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) der Produktseite auf www.qiagen.com abgerufen werden.

Allgemeine Informationen

In-vitro-Diagnostikum.

Dieses Protokoll gilt für die Aufreinigung von zirkulierender zellfreier Human-DNA aus frischem oder gefrorenem Humanplasma und -urin mit dem QIASymphony DSP Circulating DNA Kit und dem QIASymphony SP Gerät.

Kit	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit		
Katalog-Nr.	937556		
Probenmaterial	Humanplasma: <ul style="list-style-type: none">• Aus Blutentnahmeröhrchen mit ccfDNA-Profilstabilisatoren (z. B. Cell-Free DNA BCT®, Streck®)• Aus Blutentnahmeröhrchen ohne ccfDNA-Profilstabilisatoren (z. B. EDTA) Humanurin: <ul style="list-style-type: none">• Mit cfDNA-Profilstabilisatoren• Ohne cfDNA-Profilstabilisatoren		
Protokollbezeichnung	circDNA_1000_DSP_V1	circDNA_2000_DSP_V3	circDNA_4000_DSP_V3
Standard-Assay-Kontroll-Set	ACS_circDNA_1000_DSP_V1	ACS_circDNA_2000_DSP_V3	ACS_circDNA_4000_DSP_V3
Elutionsvolumen	60 µl	60 µl	60 µl
Erforderliche Softwareversion	Version 5.0 oder höher	Version 4.0 oder höher	Version 5.0 oder höher
Erforderliche Softwarekonfiguration für die In-vitro-Diagnostik	Standardprofil 1	Standardprofil 1	Standardprofil 1

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien stets einen geeigneten Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern (Safety Data Sheets, SDS) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

Schublade „Sample“ (Probe)

Probenotyp	Humanplasma und -urin (siehe „Vorbereitung des Probenmaterials“)
Probenvolumen	Abhängig vom verwendeten Probenröhrchentyp Weitere Informationen hierzu können Sie der Labormaterialliste entnehmen, die unter der Registerkarte „Resource“ (Ressource) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar ist.
Primärprobenröhrchen	n. z.
Sekundärprobenröhrchen	Weitere Informationen hierzu können Sie der Labormaterialliste entnehmen, die unter der Registerkarte „Resource“ (Ressource) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar ist.
Einsätze	Abhängig vom verwendeten Probenröhrchentyp Weitere Informationen hierzu können Sie der Labormaterialliste entnehmen, die unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar ist.
Sonstiges	Proteinase K muss auf Platz A (Position 1, 2 und/oder 3) gesetzt werden.

n. z. = nicht zutreffend

Vorbereitung der Proteinase K in der Schublade „Sample“

Der QIASymphony DSP Circulating DNA Kit enthält eine gebrauchsfertige Proteinase-K-Lösung, die bei Raumtemperatur gelagert werden kann.

Hinweis: Proteinase-K-Flaschen sind zwischen verschiedenen Kit-Chargen nicht untereinander austauschbar. Verwenden Sie nur die im entsprechenden Kit bereitgestellte Proteinase-K-Lösung.

Hinweis: Röhrcen mit Proteinase K werden in einen Röhrcenträger gesetzt. Das Röhrcen mit Proteinase K muss vorzugsweise in Position 1 gesetzt werden. Wenn mehrere Röhrcen geladen werden müssen, müssen sie in Position 1, 2 und/oder 3 von Stellplatz A der Schublade „Sample“ (Probe) gesetzt werden. Den erforderlichen Röhrcentyp können Sie der Labormaterialliste entnehmen, die unter der Registerkarte „Resource“ (Ressource) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar ist.

Anzahl Proben*	circDNA_1000_DSP (µl)	circDNA_2000_DSP (µl)	circDNA_4000_DSP (µl)
8	1580	1980	2860
24	2540	3740	6380
48	3980	6380	11 660
72	5420	9020	18 040†
96	6860	11 660	23 320†

* Je Probe sind bei circDNA_1000_DSP 60 µl, bei circDNA_2000_DSP 110 µl und bei circDNA_4000_DSP 220 µl sowie ein zusätzliches Totvolumen von 1100 µl erforderlich [(n x 60, 110 oder 220 µl) + 1100 µl].

† Bei circDNA_4000_DSP: Wenn mehr als 48 Proben verarbeitet werden, verwenden Sie ein zweites Röhrcen. Das maximale Füllvolumen je Röhrcen beträgt 11 660 µl. Beim zweiten Röhrcen ist ein zusätzliches Totvolumen von 1100 µl erforderlich.

Schublade „Reagents and Consumables“ (Reagenzien und Verbrauchsmaterialien)

Position A1 und/oder A2	Reagenzienkartusche (Reagent Cartridge, RC)
Position B1	n. z.
Halter für Spitzenracks, Positionen 1–18	Einmal-Filterspitzen, 200 oder 1500 µl
Halter für Verbrauchsartikel-Container 1–4	Verbrauchsartikel-Container enthalten Probenvorbereitungskartuschen oder 8-Rod Covers.

n. z. = nicht zutreffend

Schublade „Waste“ (Abfall)

Halter für Verbrauchsartikel-Container 1–4	Leercontainer für Verbrauchsartikel
Halter für Abfallbeutel	Abfallbeutel
Halter für Flüssigabfallbehälter	Flüssigabfallbehälter

Schublade „Eluate“ (Eluat)

Elutionsrack (es wird empfohlen Platz 1, Kühlposition, zu verwenden)	Weitere Informationen hierzu können Sie der Labormaterialliste entnehmen, die unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar ist.
--	---

Erforderliche Kunststoff-Verbrauchsartikel

Protokoll circDNA_1000_DSP

Kunststoff-Verbrauchsartikel	Eine Charge 24 Proben*	Zwei Chargen 48 Proben*	Drei Chargen 72 Proben*	Vier Chargen 96 Proben*
Disposable filter-tips, 200 µl ^{††}	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl ^{††}	64	120	176	232
Sample prep cartridges [§]	15	30	45	60
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Bei Verwendung von weniger als 24 Proben je Charge verringert sich die Anzahl der pro Lauf benötigten Einmal-Filterspitzen.

[†] Jedes Spitzenrack enthält 32 Filterspitzen.

[‡] Bei der Anzahl der erforderlichen Filterspitzen sind die für 1 Inventar-Scan pro Reagenzienkartusche benötigten Filterspitzen eingerechnet.

[§] Ein Verbrauchsartikel-Container enthält 28 Probenvorbereitungskartuschen.

[¶] Ein Verbrauchsartikel-Container enthält zwölf 8-Rod Covers.

Protokoll circDNA_2000_DSP

Kunststoff-Verbrauchsartikel	Eine Charge 24 Proben*	Zwei Chargen 48 Proben*	Drei Chargen 72 Proben*	Vier Chargen 96 Proben*
Disposable filter-tips, 200 µl ^{††}	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl ^{††}	64	120	176	232
Sample prep cartridges [§]	15	30	45	60
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Bei Verwendung von weniger als 24 Proben je Charge verringert sich die Anzahl der pro Lauf benötigten Einmal-Filterspitzen.

[†] Jedes Spitzenrack enthält 32 Filterspitzen.

[‡] Bei der Anzahl der erforderlichen Filterspitzen sind die für 1 Inventar-Scan pro Reagenzienkartusche benötigten Filterspitzen eingerechnet.

[§] Ein Verbrauchsartikel-Container enthält 28 Probenvorbereitungskartuschen.

[¶] Ein Verbrauchsartikel-Container enthält zwölf 8-Rod Covers.

Protokoll circDNA_4000_DSP

Kunststoff-Verbrauchsartikel	Eine Charge 24 Proben*	Zwei Chargen 48 Proben*	Drei Chargen 72 Proben*	Vier Chargen 96 Proben*
Disposable filter-tips, 200 µl ^{††}	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl ^{††}	104	200	298	394
Sample prep cartridges [§]	18	36	54	72
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Bei Verwendung von weniger als 24 Proben je Charge verringert sich die Anzahl der pro Lauf benötigten Einmal-Filterspitzen.

[†] Jedes Spitzenrack enthält 32 Filterspitzen.

[‡] Bei der Anzahl der erforderlichen Filterspitzen sind die für 1 Inventar-Scan pro Reagenzienkartusche benötigten Filterspitzen eingerechnet.

[§] Ein Verbrauchsartikel-Container enthält 28 Probenvorbereitungskartuschen.

[¶] Ein Verbrauchsartikel-Container enthält zwölf 8-Rod Covers.

Hinweis: Die angegebene Anzahl von Filterspitzen kann abhängig von den Einstellungen (beispielsweise von der je Charge verwendeten Anzahl der internen Kontrollen) von der auf dem Touchscreen angezeigten Anzahl abweichen.

Elutionsvolumen

Ausgewähltes Elutionsvolumen

60 µl

Anfängliches Elutionsvolumen

75 µl

Das Elutionsvolumen wird auf dem Touchscreen ausgewählt. Das mittlere verfügbare Elutionsvolumen ist ≥ 60 µl. Im Einzelfall kann das endgültige Eluatvolumen bei Einzelproben bis zu 5 µl unter dem ausgewählten Volumen liegen (z. B. 55 µl). Bei Verwendung eines automatischen Assay-Systems, welches das Eluatvolumen vor dem Transfer nicht prüft, wird empfohlen, das tatsächliche Eluatvolumen zu kontrollieren.

Lagerung von Eluaten

Hinweis: Die Stabilität von Eluaten hängt stark von verschiedenen Faktoren ab und steht in Verbindung mit der jeweiligen nachgelagerten Anwendung. Dies wurde für das QIASymphony DSP Circulating DNA Kit in Verbindung mit exemplarischen nachgelagerten Anwendungen nachgewiesen. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Gebrauchsanweisung der spezifischen, im Labor des Anwenders verwendeten nachgelagerten Anwendung zu konsultieren und/oder den gesamten Arbeitsablauf zu validieren, um geeignete Lagerungsbedingungen zu ermitteln.

Es wird empfohlen, die Eluatplatte unmittelbar nach Abschluss des Laufs aus der Schublade „Eluate“ (Eluat) zu nehmen. Elutionsplatten können nach Abschluss eines Laufs über Nacht im QIASymphony SP verbleiben (maximal 16 Stunden einschließlich Laufzeit; empfohlene Umgebungsbedingungen: 18–26 °C bei 20-75% relativer Luftfeuchtigkeit). Je nach Temperatur und Luftfeuchtigkeit kann es im Eluat zu Kondensation oder Verdunstung kommen.

Die Eluate können nach der Probenvorbereitung bei 2–8 °C maximal 1 Monat und bei –20 °C oder bei –80 °C für bis zu 2 Monate gelagert werden. Gefrorene Eluate sollten nicht mehr als maximal 3-mal aufgetaut werden.

Vorbereitung des Probenmaterials

Hinweis: Die Probenstabilität hängt in hohem Maße von verschiedenen Faktoren ab und steht im Zusammenhang mit der jeweiligen nachgelagerten Anwendung. Dies wurde für das QIASymphony DSP Circulating DNA Kit in Verbindung mit exemplarischen nachgelagerten Anwendungen nachgewiesen. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Gebrauchsanweisung der spezifischen, im Labor des Anwenders verwendeten nachgelagerten Anwendung zu konsultieren und/oder den gesamten Arbeitsablauf zu validieren, um geeignete Lagerungsbedingungen zu ermitteln.

Humanplasma

Bei der Verwendung von Blutentnahmeröhrchen mit ccfDNA-Profilstabilisatoren müssen die Anweisungen des Herstellers bei der Vorbereitung, Lagerung und dem Transport sowie bei der allgemeinen Handhabung von Proben beachtet werden. Bei der Verwendung von Blutentnahmeröhrchen ohne ccfDNA-Profilstabilisatoren müssen, sofern verfügbar, die Anweisungen des Anbieters des speziellen Untersuchungsverfahrens bei der Vorbereitung, Lagerung und dem Transport sowie bei der allgemeinen Handhabung von Plasma beachtet werden. Weitere Informationen finden Sie in der *ISO 20186-3:2019 (E) Molekularanalytische in-vitro-diagnostische Verfahren - Spezifikationen für präanalytische Prozesse für venöse Vollblutproben - Teil 3: Aus Plasma isolierte zirkulierende zellfreie DNA*.

Unabhängig von den Anweisungen des Herstellers der Blutentnahmeröhrchen sollten die folgenden Aspekte der ISO 20186-3:2019 (E) zur automatischen ccfDNA-Extraktion aus Plasma mithilfe des QIASymphony DSP Circulating DNA Kit und des QIASymphony SP Geräts berücksichtigt werden.

Blutproben ohne ccfDNA-Profilstabilisator können für die Plasmavorbereitung (z. B. in EDTA-Blutentnahmeröhrchen) verwendet werden. Plasma aus Röhrchen mit ccfDNA-Profilstabilisator (z. B. in Cell-Free DNA BCT von Streck) können ebenfalls verwendet werden.

Bei Verwendung von EDTA oder Citrat als Antikoagulans wird empfohlen, die Plasmatrennung unmittelbar nach der Blutentnahme durchzuführen.

Bei bestimmten nachgelagerten Anwendungen kann es erforderlich sein, Nukleinsäuren aus Vesikeln auszuschließen oder zu minimieren. In solchen Fällen wird empfohlen, das gewonnene Plasma bei Raumtemperatur (15–25 °C) 10 Minuten lang mit 16.000 x g bei hoher Geschwindigkeit zu zentrifugieren.

Nach Gewinnung und Zentrifugation kann das Plasma bei Raumtemperatur bis zu 7 Tage oder bei 2–8 °C bis zu 14 Tage gelagert werden. Zur längerfristigen Lagerung über bis zu 24 Monate wird das Einfrieren der Aliquote bei –20 °C oder –80 °C empfohlen. Gefrorenes Plasma sollte nicht mehr als maximal 3-mal aufgetaut werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen führt zur Denaturierung und Ausfällung von Proteinen, wodurch sich die Ausbeute an zirkulierenden, zellfreien Nukleinsäuren verringern kann. Es wird empfohlen, Plasma 30 Minuten lang in einem Wasserbad bei 30 °C aufzutauen. Falls Kryopräzipitate in den Proben sichtbar sind, müssen diese vor dem Laden der Proben auf das Gerät entfernt werden. Kryopräzipitate können durch Vortexen der Probe aufgelöst werden (stellen Sie sicher, dass auf der Probe sichtbarer Schaum vor dem Laden der Probe auf das Gerät entfernt wird). Alternativ können Kryopräzipitate durch Zentrifugieren und Übertragen des Überstands ohne Aufwirbeln des Pellets auf ein Sekundärrohrchen entfernt werden (siehe die Labormaterialliste, die unter der Registerkarte „Resource“ (Ressource) auf der Produktseite unter www.qiagen.com) zu finden ist. Starten Sie den Aufreinigungsvorgang sofort.

Humanurin

Aufgrund des schnellen Abbaus von ccfDNA nach der Urinentnahme wird dringend empfohlen, Urinproben sofort zu stabilisieren. Exemplarische nachgelagerte Anwendungen wurden für das QIASymphony DSP Circulating DNA Kit verwendet, um Empfehlungen für die Handhabung und Stabilisierung von Urin festzulegen. Obwohl das Kit als Front-End für mehrere nachgelagerte Anwendungen verwendet wird, muss die Handhabung von Urin für solche Arbeitsabläufe im Rahmen der Entwicklung der nachgelagerten Anwendung bestimmt werden. Wenn alternativ ein im Handel erhältlicher cfDNA-Profilstabilisator für Urin verwendet wird, müssen die Anweisungen des Herstellers beachtet werden.

Humanurin, stabilisiert

Stabilisierter Urin kann bei Raumtemperatur (15–25 °C) oder bei 2–8 °C bis zu 7 Tage gelagert werden. Zur längerfristigen Lagerung über bis zu 24 Monate wird das Einfrieren der Aliquote bei –20 °C oder –80 °C empfohlen.

Stabilisierte Urinproben erfordern keine Probenvorbehandlung. Nach der Stabilisierung wird empfohlen, die Urinproben bei Raumtemperatur (15–25 °C) 10 Minuten lang mit geringer Drehzahl (1900 x g) zu zentrifugieren, um vorhandene Zellen vor der Extraktion der ccfDNA zu entfernen. Wenn nach dem Zentrifugieren Niederschläge in den Überständen sichtbar sind, erwärmen Sie die Proben im Wasserbad auf 25 °C, um die Niederschläge aufzulösen. Transferieren Sie stabilisierte Urinproben vor dem Start des Laufs in ein Sekundärprobenrohrchen und laden Sie dieses auf den Probenträger (siehe Labormaterialliste, die unter der Registerkarte „Resource“ (Ressource) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar ist).

Humanurin, unstabilisiert

Bevor Sie ein Protokoll starten, bei dem Buffer ATL benötigt wird, überprüfen Sie, ob sich im Buffer ATL ein Niederschlag gebildet hat. Lösen Sie ggf. den Niederschlag durch Erwärmen auf 70 °C im Wasserbad unter leichtem Schütteln auf. Saugen Sie Blasen an der Oberfläche des Buffer ATL ab.

Hinweis: Buffer ATL (4 x 50 ml, Kat.-Nr. 939016) ist nicht Bestandteil des QIAAsymphony DSP Circulating DNA Kit und muss separat bestellt werden.

Es wird empfohlen, die Urinproben sofort nach der Entnahme bei Raumtemperatur (15–25 °C) 10 Minuten lang mit geringer Drehzahl (1900 x g) zu zentrifugieren, um vorhandene Zellen zu entfernen. Unstabilisierte Urinproben erfordern eine Vorbehandlung.

Wichtig: Äquilibrieren Sie die Proben vor Beginn der Vorbehandlung auf Raumtemperatur (15–25 °C).

Wichtig: Zentrifugation und Vorbehandlung müssen innerhalb von 4 Stunden nach der Entnahme der Urinprobe durchgeführt werden.

- Mischen Sie 1500 µl (circDNA_1000_DSP), 2500 µl (circDNA_2000_DSP) oder 4500 µl (circDNA_4000_DSP) Urin mit 150 µl, 250 µl bzw. 450 µl Buffer ATL.
- Inkubieren Sie die Proben 1 Stunde lang bei Raumtemperatur (15–25 °C).
- Zentrifugieren Sie die Proben bei Raumtemperatur (15–25 °C) 10 Minuten lang bei 1900 x g.
- Wenn nach dem Zentrifugieren Niederschläge im Überstand sichtbar sind, erwärmen Sie die Proben im Wasserbad auf 25 °C, um die Niederschläge aufzulösen.
- Transferieren Sie die Überstände in ein Sekundärprobenröhrchen und laden Sie dieses auf den Probenträger (siehe Labormaterialliste, die unter der Registerkarte „Resource“ (Ressource) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar ist).

Wichtig: Die Stabilität und Integrität von ccDNA in unstabilisierten Urinproben ist begrenzt. Es wird empfohlen, je QIAAsymphony Lauf maximal eine Charge mit 24 Proben zu laden, um den Zeitraum zu minimieren, für den sich die Urinproben im Gerät befinden.

Wichtige Hinweise, die vor dem Laden der Proben beachtet werden müssen

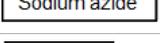
- Vermeiden Sie Schaumbildung in und auf den Proben.
- Die Proben müssen vor Start des Protokolllaufs auf Raumtemperatur (15–25 °C) äquilibriert werden.

Störsubstanzen

Hohe Konzentrationen von Gammaglobulin (> 30 g/l) in Plasmaproben können zur einer geringeren Ausbeute an zirkulierender zellfreier DNA führen.

Symbole

Die folgenden Symbole werden in der Gebrauchsanweisung oder auf der Verpackung und Kennzeichnung verwendet:

Symbol	Bedeutung des Symbols
	Reagenzieninhalt ausreichend für <N> Reaktionen
	Verfallsdatum
	Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der europäischen Verordnung 2017/746 über In-vitro-Diagnostika.
	In-vitro-Diagnostikum
	Katalognummer
	Chargennummer
	Materialnummer (d. h. Kennzeichnung von Komponenten)
	Komponenten
	Enthält
	Anzahl
	Internationale Artikelnummer (Global Trade Item Number, GTIM)
Rn	R steht für Revision der Gebrauchsanweisung, n ist die Revisionsnummer
	Zulässiger Temperaturbereich
	Hersteller
	Gebrauchsanweisung beachten
	Warnung/Vorsicht
	Proteinase K
	Well-Nummer (d. h. Well der Reagenzienkartusche)
	Reagenzienkartusche
	Natriumazid
	Ethanol
	Unique Device Identifier (eindeutige Gerätekennung)

Bearbeitungsverlauf

Revision	Beschreibung
R1, Juni 2022	Version 2, Revision 1 <ul style="list-style-type: none">• Aktualisierung auf Version 2 zur Einhaltung der Verordnung über In-vitro-Diagnostika• Die Formulierung der Probenhandhabung wurde zur Übereinstimmung mit der ISO 20186-3:2019 (E) Molekularanalytische in-vitro-diagnostische Verfahren - Spezifikationen für präanalytische Prozesse für venöse Vollblutproben - Teil 3: Aus Plasma isolierte zirkulierende zellfreie DNA aktualisiert
R2, Januar 2023	Version 2, Revision 2 <ul style="list-style-type: none">• Aktualisierung zum Hinzufügen von BioScript für Probenvolumen von 1 ml (circDNA 1000 DSP)• Aktualisierung auf V3 für circDNA_2000 und circDNA_4000

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Haftungsausschlüsse finden Sie im jeweiligen QIAGEN® Kit-Handbuch oder Benutzerhandbuch. QIAGEN Kit-Handbücher und Benutzerhandbücher sind unter www.qiagen.com verfügbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder Ihrem Händler vor Ort angefordert werden.

Marken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt.

01/2023 HB-3034-S01-002 © 2022 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.