

QIAsymphony® DSP DNA Midi Kit

機器使用説明書（プロトコールシート）

DNA_Buffy_Coat_400_V6 DSP プロトコール

バージョン 2

IVD

体外診断用医薬品

QIAsymphony DSP DNA Midi Kit (96)と使用

CE

REF

937255



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 Midi Kit を使用し、ヒトの新鮮全血/凍結全血からトータルゲノム DNA およびミトコンドリア DNA を精製するためのものです。

キット	QIAsymphony DSP DNA Midi Kit (カタログ番号 937255)
サンプル材料	軟膜 (EDTA、クエン酸、またはヘパリン抗凝固剤)
プロトコール名	DNA_BC_400_V6_DSP
デフォルトのアッセイコントロールセット	ACS_BC_400_V6_DSP
変更可能なパラメータ	溶出量: 200、400 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

「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	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。

該当なし = 該当せず。

「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 [†] ‡	4	4	4	8
Disposable filter-tips, 1500 µl [†] ‡	110	212	314	424
Sample prep cartridges [§]	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。

溶出量

溶出量はタッチスクリーンで選択します。サンプルのタイプおよびDNA含量により、最終溶出量は選択された溶出量よりも最大15 µl少なくなる可能性があります。溶出量は変動する可能性があることから、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。溶出量が減少すると最終DNA濃度は上昇しますが、多少収量が低下します。目的のダウンストリームアプリケーションに適した溶出量にすることをお勧めします。

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。

軟膜

軟膜は全血のうち白血球を多く含む画分です。白血球の濃縮率は、軟膜の調製手順と軟膜層の抽出精度により異なります。軟膜を調製するには、一般的な抗凝固剤（EDTA、クエン酸、またはヘパリン）を含む全血サンプルを室温（15～25℃）にて 900～1100 x g で 10 分間遠心分離します。遠心分離後、全血は 3 つの層に分離します。上層は透明な血漿、中間層は濃縮白血球を含む軟膜、下層は濃縮赤血球です。全血 10 ml を遠心分離すると白血球を含む画分が約 1 ml 得られ、白血球は平均で 5～6 倍に濃縮されます。たとえば、 6×10^6 個/ml の白血球を含む全血 10 ml から軟膜 1 ml が得られます。白血球の濃縮率を 5 倍と仮定すると、この場合の白血球数は 3×10^7 個/ml となります。したがって、軟膜 400 μ l を使用するプロトコルでは、 1.2×10^7 個の白血球を使用します。

DNA 精製における過剰な負荷を避けるために、濃縮率が 10 倍を超える軟膜サンプルを調製しないでください。軟膜サンプルの濃縮率が 10 倍を超える場合は、サンプルを PBS で希釈して濃縮率を 10 倍以下に下げるか、DNA 精製で使用する出発材料の量を少なくします。

軟膜サンプルは、すぐに使用するか、-20℃または-80℃で保管して後日、DNA を精製することが可能です。凍結サンプルは、37℃のウォーター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℃）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。

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。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。

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℃、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。

短期保存の場合、室温で最長 2 週間の保存が可能です。長期間保存する場合、2～8℃、-20℃、または-80℃での保存をお勧めします。凍結した溶出液の解凍は最大 3 回まで可能です。

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 Midi 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。

開始する前の重要な留意点

- QIASymphony の磁性粒子は、サンプルに含まれる RNA も同時に精製します。サンプルの RNA 含量を最小限に抑えるために、手順を開始する前に RNase A をサンプルに添加してください。最終的な RNase A 濃度は 2 mg/ml とします。

制限事項および妨害物質





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 Midi 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：QIAAsymphony DSP DNA Midi Kit の開発において、分析パフォーマンスに対するヘパリンの悪影響を示唆する徴候は観察されませんでした。しかし、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、ワークフローに対するヘパリンの悪影響がないことをお客様の責任において確認してください。

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「制限事項および妨害物質」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)。本文書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-S05-001© 2022 QIAGEN、無断複写・転載を禁じます。