



2022 年 6 月

QIAsymphony[®] DSP DNA Kit 使用说明 (性能特点)

第 2 版

IVD

供体外诊断使用

用于 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit 和 QIAsymphony DSP DNA Midi Kit



REF

937236, 937255



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 德国

R1

性能特点有电子版，可以在 www.qiagen.com 产品页面的“资源”标签下找到。

一般说明

QIAasymphony DSP DNA Kit 旨在仅配合 QIAasymphony SP 使用。

QIAasymphony DSP DNA Mini Kit 提供的试剂用于从人全血、血沉棕黄层、组织以及石蜡包埋 (Formalin Fixed, Paraffin Embedded, FFPE) 组织样本中自动纯化全 DNA，以及从人全血中纯化病毒 DNA。QIAasymphony DSP DNA Midi Kit 为从人全血和血沉棕黄层中自动纯化总 DNA 提供试剂。但对每种采血管或组织类型的性能特点尚未得到确定，必须由用户验证。

磁珠技术支持对没有蛋白、核酸酶和其他杂质的高质量核酸进行纯化。纯化核酸可随时直接用于下游应用，例如扩增反应 (PCR)。QIAasymphony SP 执行纯化操作程序的所有步骤。一次运行最多以 24 批次处理最多 96 份样本。

下面显示了不同应用的选定性能数据。

性能特点

提示：性能特点高度依赖于各种因素，并与特定的下游应用相关。QIAsymphony DSP DNA Mini 和 Midi Kit 可与示例性下游应用联用。然而，从生物标本中分离核酸的方法是各种下游应用的前端。作为下游应用开发的一部分，任何此类 workflow 都需要建立性能参数，例如交叉污染或运行精度。因此，用户有责任验证整个 workflow，以确立适合的性能参数。

基本性能以及与不同下游应用的兼容性

DNA 血液和血沉棕黄层

DNA 产量

使用不同的采样管和抗凝剂，以及新鲜和冷冻人全血评价 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit 的基本性能。从 3 名健康供体（白细胞 [WBC] 计数 $4.0-11.0 \times 10^6$ 个细胞/ml）采集全血，然后置于 3 种不同类型的试管中：EDTA，10 ml BD™ Vacutainer® 16 x 100 mm (K2-EDTA)；柠檬酸盐，2.7 ml Sarstedt® S-Monovette® 9NC 试管 13 x 75 mm（柠檬酸盐）；肝素，7.5 ml Sarstedt S-Monovette 15 x 92 mm（肝素锂）。使用的血液为新鲜（2-8°C 下保存）或冷冻（-20°C 下保存）样本。使用 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit 和 Blood 200 DSP 方案结合 200 μ l 洗脱体积，从 200 μ l 样本中纯化基因组 DNA，每个供体和试管类型重复 4 次。通过光谱分析测定 DNA 产量和纯度（图 1）。

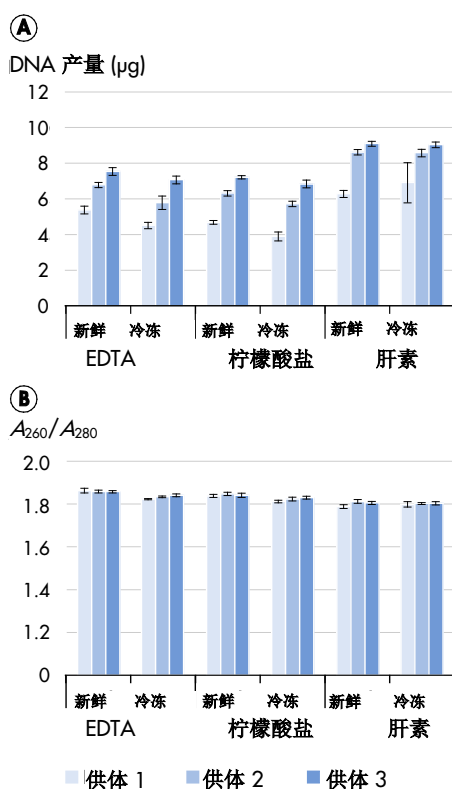


图 1. 使用不同样本采样管和抗凝剂以及新鲜和冷冻人全血的 DNA 产量和纯度。 A DNA 产量，条带表示 DNA 绝对产量和标准差。B DNA 纯度，条带表示 DNA 纯度和标准差。

DNA 完整性

使用 LongRange PCR 检测扩增长片段 PCR 产物 (5 kb) (图 2)。

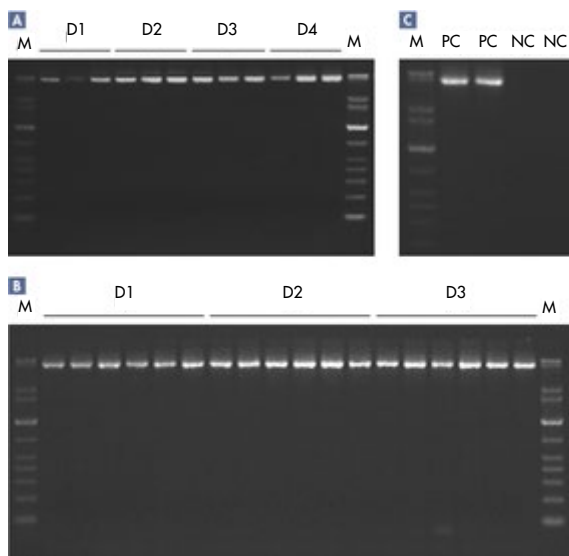


图 2. 通过长片段 PCR 进行 DNA 完整性测试。 M, QIAGEN GelPilot 1 kb Plus Ladder。A 使用 BD K2E 管从 4 名健康供体 (D) 中采集全血。使用 QIASymphony DSP DNA Mini Kit 和 Blood 200 DSP 方案结合 200 μ l 洗脱体积, 从 200 μ l 等分试样中纯化用于长片段 PCR 的基因组 DNA, 一式三份。D1, 供体 1; D2, 供体 2; D3, 供体 3; 和 D4, 供体 4。B 从 3 名健康供体中采集全血至 BD K2E 管中, 并制备血沉棕黄层。使用 QIASymphony DSP DNA Mini Kit 和 Buffy Coat 200 DSP 方案结合 200 μ l 洗脱体积, 从 200 μ l 等分试样中纯化基因组 DNA, 6 份重复样本。D1, 供体 1; D2, 供体 2; 和 D3, 供体 3。C 对照品: PC, 阳性对照; NC, 阴性对照。

DNA 产量与 WBC 计数的相关性

使用血液和血沉棕黄层样本评价 QIASymphony DSP DNA 血液和血沉棕黄层应用的性能, 每种样本类型有 6 种不同的 WBC 计数。对于全血, WBC 计数范围为 4×10^6 个细胞/ml 至 11.6×10^6 个细胞/ml, 对于血沉棕黄层, 计数范围为 2.2×10^7 个细胞/ml 至 5.6×10^7 个细胞/ml。通过光谱分析测定 DNA 产量, 并绘制与 WBC 计数的关系图 (图 3)。

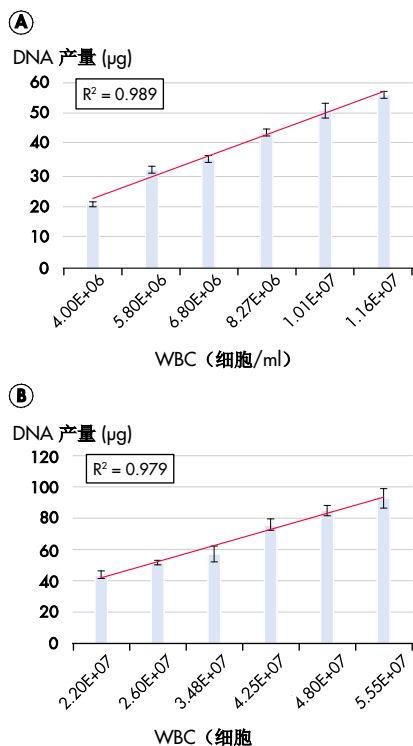


图 3. DNA 产量与 WBC 计数的相关性。 A 使用 QIAasymphony DSP DNA Midi Kit 和 Blood 1000 DSP 方案结合 500 µl 洗脱体积，从 1 ml 人全血中纯化基因组 DNA。条带表示 DNA 绝对产量和标准差。B 使用 QIAasymphony DSP DNA Midi Kit 和 Buffy Coat 400 DSP 方案结合 400 µl 洗脱体积，从 400 µl 血沉棕黄层中纯化基因组 DNA。条带表示 DNA 绝对产量和标准差。

病毒血液

通过在 CMV 阴性人全血中稀释预定量 CMV WHO 标准材料进行命中率研究。观察到病毒载量为 90 IU CMV/ml 的样本的检出率为 100% (表 1)。

表 1. QIAasymphony DSP 病毒血液应用的灵敏度

CMV (IU/ml)	Replicates (副本)	命中	命中率 (%)
350	18	18	100.00
230	32	32	100.00
115	31	31	100.00
90	32	32	100.00
60	30	24	80.00
30	30	15	50.00
15	30	10	33.33
6	21	5	23.81
2	21	2	9.52
0	15	0	0.00

在 BD K2E 管中采集 1 例健康 CMV 阴性供体的人全血，并使用不同滴度掺入 CMV WHO 标准物质。使用 QIAasymphony DSP DNA Mini Kit 和 Virus Blood 200 DSP 方案结合 60 µl 洗脱体积，纯化病毒 DNA。使用 CMV real time PCR 检测分析洗脱液。

组织和 FFPE 组织

DNA 产量

使用 1-4 个新鲜切割的人脾脏的 10 μm FFPE 切片的 6 份重复样本评价 QIAAsymphony DSP DNA FFPE 组织应用的性能。采用 QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit 结合 Tissue LC DSP 方案进行 DNA 提取。脱蜡和裂解采用二甲苯/乙醇预处理法。在 50 μl 洗脱缓冲液中洗脱 DNA，并通过光谱分析测定 DNA 的产量（图 4）。

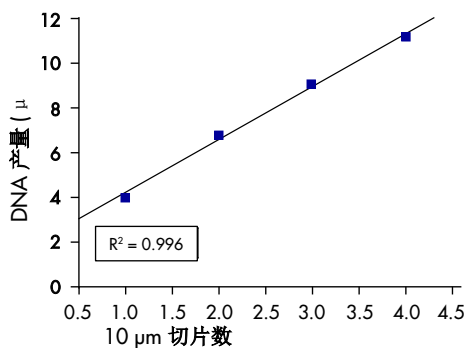


图 4. DNA 产量与 FFPE 组织切片数量的相关性。通过二甲苯/乙醇预处理对 1-4 个人脾脏 10 μm FFPE 切片的 6 份重复样本进行脱蜡。采用 QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit 结合 Tissue LC DSP 方案和 50 μl 洗脱体积，在 QIAAsymphony SP 上进行 DNA 提取。

通过 real-time PCR 分析生物标志物突变状态

使用从人结肠 FFPE 切片中提取的 DNA 和从人肺组织样本中提取的 DNA 进行生物标志物突变状态分析。

对于 FFPE 组织样本的 DNA 提取，使用 $3 \times 10 \mu\text{m}$ 人结肠切片进行样本制备。使用用于预处理的 Deparaffinization Solution 和 Tissue LC DSP 方案结合 100 μl 洗脱体积，进行 DNA 提取。根据检测手册，使用用于 KRAS 检测的 real time PCR 检测进行生物标志物 KRAS 突变分析。对照检测试剂的 C_T 值在规定范围内，突变检测分析表明密码子 12 发生氨基酸置换，表现为 ΔC_T 值为 4.17，低于 12SER 突变检测的规定临界值 8（表 2）。

表 2.FFPE 组织 KRAS 生物标志物突变分析结果

样本	反应	目标 C _T	内部对照品 C _T	ΔC _T *
无模板对照	对照	0.00	32.75	-
	12ALA	0.00	32.65	-
	12ASP	0.00	32.69	-
	12ARG	0.00	32.86	-
	12CYS	0.00	32.35	-
	12SER	0.00	32.76	-
	12VAL	0.00	32.41	-
	13ASP	0.00	32.26	-
标准样	对照	25.95	32.73	-
	12ALA	26.39	32.29	0.44
	12ASP	26.54	32.15	0.59
	12ARG	26.35	32.14	0.40
	12CYS	26.31	32.47	0.36
	12SER	26.50	32.34	0.55
	12VAL	25.80	31.92	-0.15
	13ASP	27.09	32.54	1.14
FFPE 组织（人结肠）	对照	24.94	31.98	-
	12ALA	n.d.	32.42	-
	12ASP	n.d.	32.73	-
	12ARG	n.d.	33.05	-
	12CYS	n.d.	32.74	-
	12SER	29.11	32.34	4.17
	12VAL	n.d.	32.81	-
	13ASP	n.d.	33.20	-

* $\Delta C_T = M C_T - C C_T$ ，其中 M 表示突变，C 表示对照；n.d.表示未检出。

对于冷冻组织样本的 DNA 提取，采用 Tissue HC DSP 方案结合 200 μ l 洗脱体积，使用 25 mg 人肺组织进行样本制备。使用用于 EGFR 的 real time PCR 检测进行 EGFR 生物标志物突变分析。按照检测手册所述进行对照分析和突变检测。结果显示 EGFR 基因内缺失，表现为 ΔC_T 值为 2.47，低于突变检测的规定临界值 12（表 3）。

表 3. 冷冻组织 EGFR 生物标志物突变分析结果

样本	反应	目标 C _T	内部对照品 C _T	ΔC _T *
无模板对照	对照	0.00	31.71	-
	T790M	0.00	32.36	-
	缺失	0.00	31.75	-
	L858R	0.00	32.05	-
	L861Q	0.00	31.77	-
	G719X	0.00	31.68	-
	S768I	0.00	32.25	-
	插入	0.00	31.84	-
标准样	对照	28.78	31.05	-
	T790M	30.08	31.13	1.30
	缺失	28.23	31.19	-0.55
	L858R	27.58	30.83	-1.20
	L861Q	27.80	30.86	-0.98
	G719X	27.80	30.90	-0.98
	S768I	29.28	31.41	0.50
	插入	28.00	31.64	-0.78
组织（人肺）	对照	25.76	31.23	-
	T790M	n.d.	31.99	-
	缺失	28.23	30.99	2.47
	L858R	n.d.	31.33	-
	L861Q	n.d.	31.98	-
	G719X	n.d.	32.06	-
	S768I	n.d.	31.88	-
	插入	n.d.	31.62	-

* ΔC_T = M C_T - C C_T, 其中 M 表示突变, C 表示对照; n.d.表示未检出。

可重复性与可再现性

DNA 血液

采用 Blood 200 DSP 方案结合 200 μl 洗脱体积, 进行 DNA 提取。通过一位操作员在 3 个不同日期进行 3 次独立运行（每次 96 份样本），每次运行包括 4 个批次的 24 份样本, 对重复性进行评价（表 4 和表 5）。

通过在 3 个不同日期进行 3 次独立运行（每次 96 份样本），由 3 名不同的操作员在不同的 QIAAsymphony SP 仪器上每次运行包括 4 个批次的 24 份样本, 对重现性进行评价（表 6 和表 7）。

表 4. 重复性评价结果

运行	批次	编号	平均 DNA 产量 (µg)	SD	CV
1	1	24	5.32	0.22	4.22
	2	24	4.90	0.22	4.54
	3	24	4.95	0.21	4.26
	4	24	5.05	0.18	3.60
2	1	24	5.17	0.30	5.84
	2	24	4.90	0.15	3.14
	3	24	4.82	0.20	4.13
	4	24	4.87	0.17	3.52
3	1	24	5.11	0.17	3.33
	2	24	4.84	0.24	4.91
	3	24	4.87	0.16	3.38
	4	24	4.78	0.16	3.38
合计	-	288	4.96	-	-

n, 重复次数; SD, 标准差; CV, 变异系数。

表 5. 重复性评价的精确性数据

	SD	CV
同一运行中的批次间	0.25	4.95
总体重复性准确度	0.26	5.18

SD, 标准差; CV, 变异系数。

表 6. 重现性评价结果

运行	批次	编号	平均 DNA 产量 (µg)	SD	CV
1	1	24	5.32	0.22	4.22
	2	24	4.90	0.22	4.54
	3	24	4.95	0.21	4.26
	4	24	5.05	0.18	3.60
2	1	24	5.73	0.22	3.81
	2	24	5.56	0.26	4.63
	3	24	5.40	0.20	3.63
	4	24	5.46	0.21	3.89
3	1	24	5.73	0.26	4.62
	2	24	5.54	0.24	4.40
	3	24	5.41	0.18	3.34
	4	24	5.49	0.17	3.16
合计	-	288	5.38	-	-

n, 重复次数; SD, 标准差; CV, 变异系数。

表 7. 重现性评价的精确性数据

	SD	CV
同一运行中的批次间	0.25	4.73
总体重复性准确度	0.38	7.03

SD, 标准差; CV, 变异系数。

比较性能

DNA 血液

与 EZ1[®] DSP DNA 血液系统和 QIAamp[®] DNA Blood Mini Kit 手动制备操作流程相比，分析 QIAAsymphony DSP DNA 血液系统的性能。从不同血样中纯化 DNA，分析 DNA 产量（图 5）。

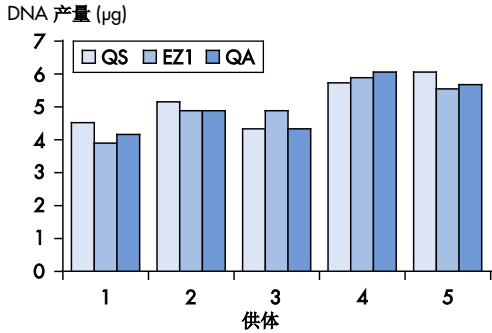


图 5. 不同血液 DNA 纯化系统之间 DNA 产量比较。 使用 BD K2E 管从 5 名健康供体中采集全血。对于所有方法，均使用 200 µl 样本输入体积和 200 µl 洗脱体积。QS，QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit 和 Blood 200 DSP 方案；EZ1，EZ1 Advanced XL 使用 EZ1 DSP DNA Blood Kit；QA，QIAamp DNA Blood Mini Kit。条带表示各个样本的 DNA 绝对产量。

组织和 FFPE 组织

分别使用 FFPE 组织以及新鲜和冷冻组织作为样本材料，将 QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit 的性能与手动使用 QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit 和 QIAamp DSP DNA Mini Kit 的性能进行比较。同时进行手动和自动样本制备，以及 DNA 产量定量。使用 QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit、QIAamp DSP DNA Mini Kit（组织）和 QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit（FFPE 组织）从新鲜/冷冻和 FFPE 组织样本中提取后的 DNA 产量如图 6 所示。

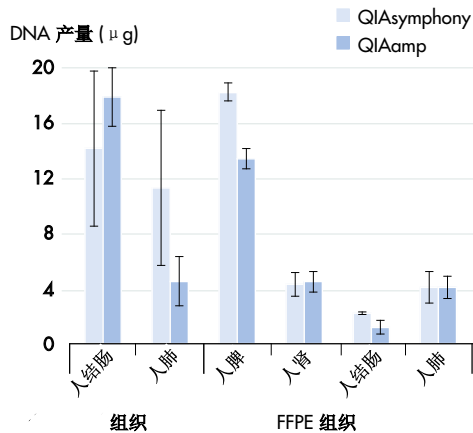


图 6. 从组织和 FFPE 组织样本中提取 DNA。 对于新鲜/冷冻组织，将人肺和结肠样本切成 6 份 25 mg 切片。每种组织类型 3 份，采用 QIAAsymphony SP 结合 Tissue HC DSP 方案进行样本制备。使用 QIAamp DSP DNA Mini Kit 从其余样本中提取 DNA。在 200 µl 洗脱液中洗脱 DNA，并通过光谱分析测定 DNA 产量。对于从 FFPE 组织中提取的 DNA，制备了含有来自不同人体器官的 3 份 10 µm FFPE 组织切片的 12 份重复样本。结合使用 QIAAsymphony SP 和 Deparaffinization Solution 预处理以及 Tissue LC DSP 方案，将 6 份样本用于样品制备。使用 QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit 从其余样本中提取 DNA。在 50 µl 洗脱液中洗脱 DNA，并通过光谱分析测定 DNA 产量。条带表示 DNA 绝对产量和标准差。

样本输入/洗脱液输出范围

DNA 血液

使用 WBC 计数范围为 $5.0-8.0 \times 10^6$ 个细胞/ml 的供体样本，比较 DNA 血液应用的不同样本输入和洗脱输出范围。

使用 BD K2E 管从 8 名健康供体中采集全血。从 6 份重复样本中纯化 DNA，每个供体均采用 QIAasymphony DSP DNA Mini/Midi Kit 和 DNA Blood 200 DSP 方案结合 200 μ l 洗脱体积、DNA Blood 400 DSP 方案结合 400 μ l 洗脱体积以及 DNA Blood 1000 DSP 方案结合 500 μ l 洗脱体积（图 7）。

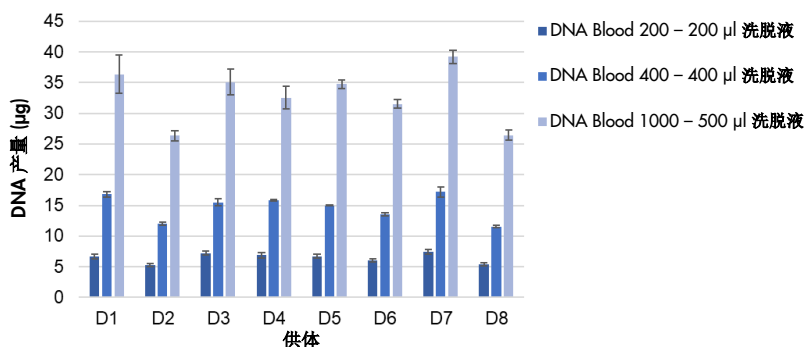


图 7. 血液 DNA 纯化系统不同样本输入和洗脱体积的比较。 使用 BD K2E 管从 8 名健康供体中采集全血。采用 DNA Blood 200 方案结合 200 μ l 洗脱体积、DNA Blood 400 方案结合 400 μ l 洗脱体积以及 DNA Blood 1000 方案结合 500 μ l 洗脱体积进行 DNA 提取。通过光谱分析测定 DNA 产量。条带表示每个供体的 DNA 绝对产量（平均值和标准差）。

病毒血液

从 3 名健康供体采集全血，其中 WBC 计数范围为 $4.0-11.0 \times 10^6$ 个细胞/ml，将采集的血液置于 BD K2E 管中，并掺入 CMV 标准材料（滴度 $3.7 \log$ 份数/ml）。从 7 份重复样本中纯化病毒 DNA，每个供体均采用 QIAasymphony DSP DNA Mini Kit 和 Virus Blood 200 DSP 方案，有 4 个不同的洗脱体积（图 8）。

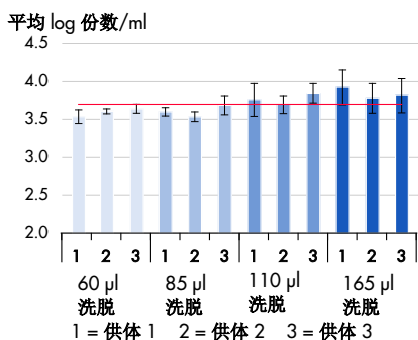


图 8. 不同洗脱体积的病毒 DNA 定量比较。 采用 CMV real time PCR 检测分析各供体样本的洗脱液和洗脱体积（60、85、110 和 165 μ l）。红线代表目标滴度，条带表示每毫升的平均 log 份数和标准差。

洗脱液稳定性

提示：洗脱液稳定性高度依赖于各种因素，并与特定的下游应用相关。QIAasymphony DSP Mini 和 Midi Kit 可与示例性下游应用联用。用户应负责查阅在其实验室中使用的特定下游应用的使用说明和/或验证整个工作流程，以建立适当的存储条件。

DNA 血液和血沉棕黄层

使用通过 DNA Blood 200 方案结合 200 μ l 洗脱体积以及 DNA Blood 1000 方案结合 500 μ l 洗脱体积进行 QS 运行得到的洗脱液，测试 DNA 血液应用的洗脱液稳定性。将洗脱液储存于室温、2-8 $^{\circ}$ C、-20 $^{\circ}$ C 和 -80 $^{\circ}$ C 下 2 ml Sarstedt 试管中。通过光谱分析测定 DNA 产量和纯度。通过凝胶电泳和 LongRange PCR 检测分析 DNA 完整性（图 9）。

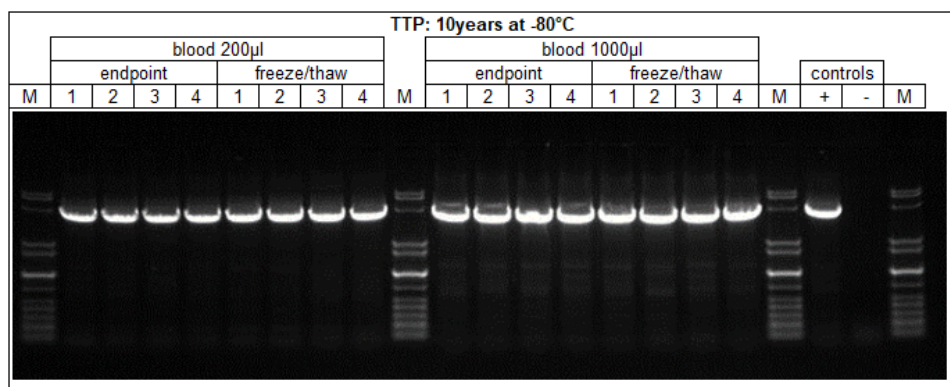


图 9. DNA 血液的洗脱液稳定性。采用 DNA Blood 200 μ l 和 1000 μ l 方案纯化 DNA。将洗脱液储存于 -80 $^{\circ}$ C 下 2 ml Sarstedt 试管中。对 4 份重复样本进行分析。通过长片段 PCR 进行 DNA 完整性测试。该图显示了储存 10 年后的结果。M, QIAGEN GelPilot 1 kb Plus Ladder。

使用通过 BC 400 μ l 方案结合 200 μ l 洗脱体积进行 QS 运行得到的洗脱液，测试用于血沉棕黄层应用的洗脱液稳定性。将洗脱液储存于室温、2-8 $^{\circ}$ C、-20 $^{\circ}$ C 和 -80 $^{\circ}$ C 2 ml Sarstedt 试管和 Elution Micro 管架中。此外，对洗脱液进行 3 次冻融循环测试（图 10）。通过光谱分析测定 DNA 产量和纯度。通过凝胶电泳和 LongRange PCR 检测分析 DNA 完整性（50 μ l 反应）。

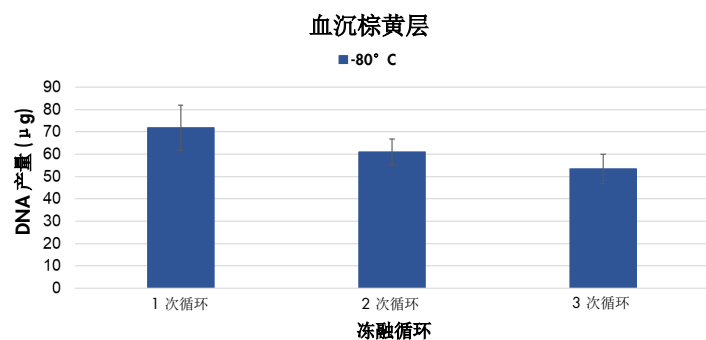


图 10. 血沉棕黄层的洗脱液冻融循环。采用 DNA BC 400 μ l 方案纯化 DNA。通过 EDTA 血液得到血沉棕黄层。将洗脱液储存于 2 ml Sarstedt 试管中。在 3 次冻融循环中的测试时间点，使用相同的洗脱液来确定 DNA 的产量。通过光谱分析测定 DNA 产量。条带表示 DNA 绝对产量（平均值和标准差）。

病毒血液

使用通过 Virus Blood 200 方案结合 60 μ l 洗脱体积进行 QS 运行得到的洗脱液，测试用于病毒血液应用的洗脱液稳定性。使用掺有市售 CMV 标准品（滴度 2.7 log 份数/ml）的 K₂ EDTA 血液作为样本材料。将洗脱液储存于 2-8 $^{\circ}$ C、-20 $^{\circ}$ C 和 -80 $^{\circ}$ C 下 2 ml Sarstedt 试管中。使用 CMV real time 检测分析洗脱液（图 11）。下图显示了几个测试时间点的结果。

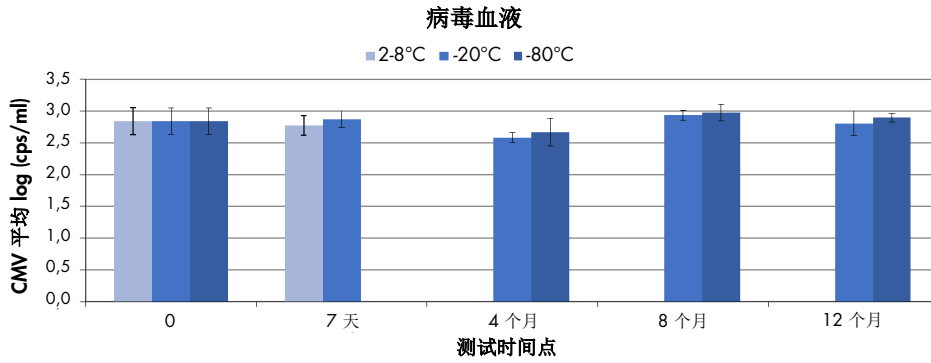


图 11. 病毒血液应用的洗脱液稳定性。采用 Virus Blood 200 方案纯化掺有市售 CMV 标准品的 EDTA 血样。将洗脱液储存在多个温度下 Elution Micro 管架和 2 ml Sarstedt 试管中。每个测试时间点对 4 份重复样本进行分析。条带表示 CMV 滴度（平均 log 值和标准差）。

组织

采用 Tissue HC 200 μ l 方案结合 200 μ l 洗脱体积，测试用于组织应用的洗脱液稳定性。使用新鲜牛肝作为样本材料。将洗脱液储存于室温、2-8°C、-20°C 和 -80°C 下 2 ml Sarstedt 试管和 Elution Micro 管架中。通过光谱分析测定 DNA 产量和纯度（图 12）。通过凝胶电泳分析 DNA 完整性。

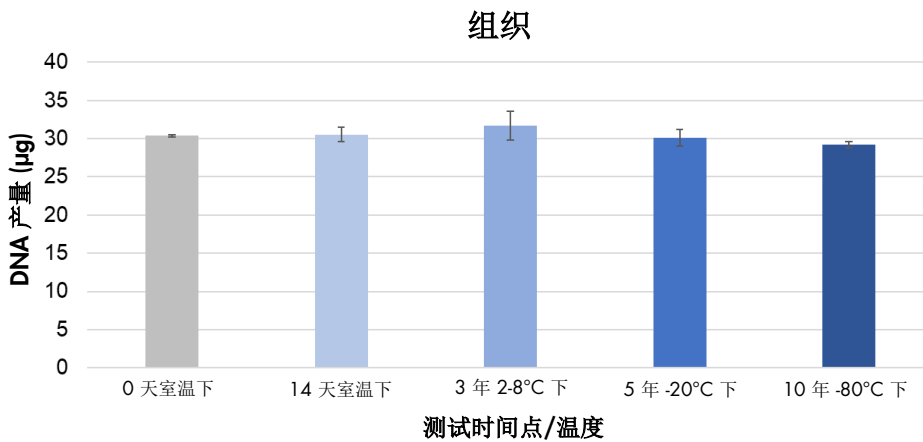
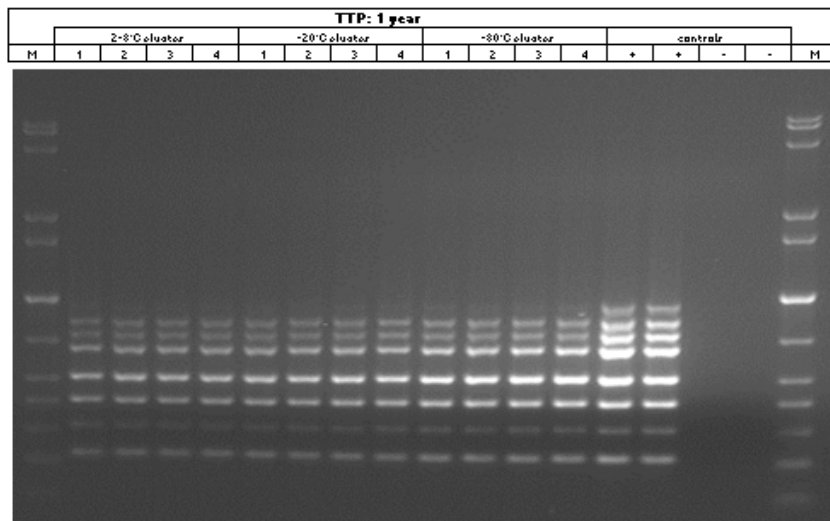


图 12. 组织的洗脱液稳定性。采用 DNA Tissue HC 方案结合 200 μ l 洗脱体积纯化 DNA。使用新鲜牛肝作为样本材料。将洗脱液储存在多个温度下 Elution Micro 管架和 2 ml Sarstedt 试管中。每个测试时间点对 4 份重复样本进行分析。通过光谱分析测定 DNA 产量。条带表示 DNA 绝对产量（平均值和标准差）。

FFPE 组织

采用 Tissue LC 200 μ l 方案结合 100 μ l 洗脱体积，测试用于 FFPE 组织应用的洗脱液稳定性。使用市售人 FFPE 组织作为样本材料。将洗脱液储存于室温、2-8°C、-20°C 和 -80°C 2 ml Sarstedt 试管和 Elution Micro 管架中。采用内部人 8 重 PCR 检测分析洗脱液（图 13）。下图显示了 2 个测试时间点的结果。

A:



B:

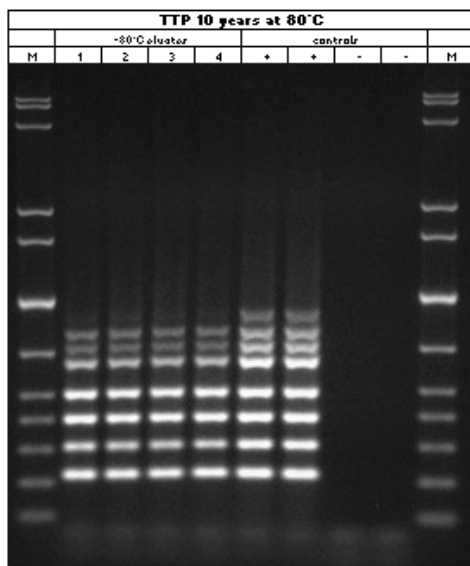


图 13. FFPE 组织的洗脱液稳定性。采用 DNA Tissue LC 方案纯化 DNA。使用市售 FFPE 组织作为样本材料。将洗脱液储存在多个温度下 Elution Micro 管架和 2 ml Sarstedt 试管中。每个测试时间点对 4 份重复样本进行分析。采用内部人 8 重 PCR 检测分析洗脱液。

干扰性物质

通过添加以下物质测试全血中可能存在的抑制物质对 DNA 血液应用、病毒血液应用和组织应用性能的影响：

表 8. 测试不同应用的潜在干扰性物质

干扰性物质	浓度	血液	病毒血液	组织
胆红素	200 mg/L	✓	✓	✓
血红蛋白	200 g/L	✓	✓	
甘油三酯	30 g/L	✓	✓	✓
蛋白质	120 g/L	✓	✓	✓

提示：“✓”表示针对相应的潜在干扰性物质测试了哪些样本材料。

对于血红蛋白 (200 g/l) 和蛋白质 (120 g/l)，测定血样中这两种物质的现有水平，并加入额外的血红蛋白或蛋白质以达到指定浓度，分别为 200 g/l 和 120 g/l。对于胆红素 (200 mg/l) 和甘油三酯 (30 g/l)，将每种物质的总量加入样本中以达到指定浓度。

对于组织，将每种物质的总量直接加入裂解物中，不测定所用组织样本中胆红素、甘油三酯或蛋白质的浓度。

任何潜在的干扰性物质（例如药物）及相应浓度都与下游应用和患者之前可能接受的医学治疗具有高度特异性，在使用 QIASymphony DSP DNA Mini 和 Midi Kit 验证此类下游应用期间需要对此进行调查。

提示：使用下游应用示例进行测试，以评估核酸提取质量。然而，不同的下游应用可能对纯度有不同的要求（例如，无潜在干扰性物质或潜在干扰性物质的浓度），因此作为下游应用开发的一部分，涉及 QIASymphony DSP Mini 和 Midi Kit 的任何工作流都需要进行相关物质及各自浓度的鉴定和测试。

提示：请注意，在 QIASymphony DSP DNA Midi Kit 的开发过程中，未观察到肝素对性能存在负面影响的迹象。但是，根据 ISO 20186-2:2019(E)，采血管中的肝素可能会影响分离的核酸纯度，并且可能残留到洗脱液中，从而在某些下游应用中产生抑制作用。因此，用户有义务确认肝素是否对其工作流程有负面影响。

DNA 血液和血沉棕黄层

对于 DNA 血液应用，使用 DSP DNA 1000 方案进行测试，该方案涵盖了最高的样本输入体积，使用 200 µl 和 500 µl 洗脱体积。

通过光谱分析对洗脱液进行 DNA 产量和纯度分析。使用 real-time PCR 以及终点 PCR 检测测试 PCR 兼容性。

表 9 中所列的物质均不具有干扰性；但是，含有高浓度甘油三酯 (> 30 g/l) 的血液样本可能导致 gDNA 产量降低。

病毒血液

对于病毒血液应用，使用 DSP Virus Blood 200 方案结合 60 µl 洗脱体积进行测试。CMV 阴性血样掺有 500 份数/ml（低浓度）和 1×10 E+04 份数/ml（高浓度，图 14）市售 CMV 标准品。

使用 CMV real-time PCR 检测分析洗脱液。

表 9 中所列的物质均不具有干扰性；但是，含有高浓度甘油三酯 (> 30 g/l) 的血液样本可能导致病毒 DNA 纯化减少。

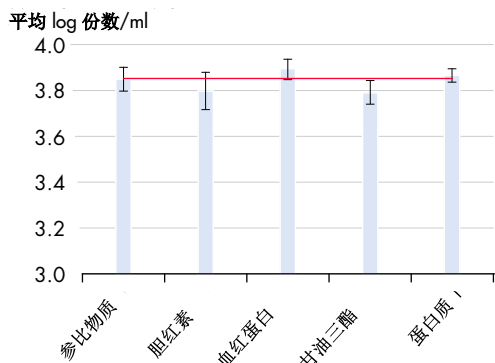


图 14. 抑制物质测试。 从 1 名健康供体采集全血置于 BD K2E 管中，并掺入 CMV 标准材料（滴度 4.0 log 份数/ml）。通过加入潜在抑制剂对 5 份样本进行测试，使用 QIAasymphony DSP DNA Mini Kit 和 Virus Blood 200 DSP 方案结合 165 µl 洗脱体积从每份样本的 4 个重复样本中纯化病毒 DNA。使用 CMV real time PCR 检测分析洗脱液。红线代表未掺入任何抑制物质的参比样本的测定滴度，条带表示每毫升的平均 log 份数和标准偏差。

组织

对于 DNA 组织（新鲜和冷冻），使用 DSP DNA HC 方案结合 200 µl 洗脱体积进行测试。

通过光谱分析对洗脱液进行 DNA 产量和纯度分析。使用 real-time PCR 检测测试 PCR 兼容性。

经确认，表 9 中列出的物质均未对样本制备产生负面影响。

FFPE 组织

对于 FFPE 组织，使用 DSP DNA LC 方案结合 50 µl 洗脱体积进行测试。

将物质（参见表 9）直接加入裂解物中。

表 9. 测试不同应用的潜在干扰性物质

干扰性物质	裂解物中的浓度
二甲苯	达 11%
乙醇	达 11%
Deparaffinization Solution	达 11%
石蜡	0.1 µM 切片

通过光谱分析对洗脱液进行 DNA 产量和纯度分析。使用 real-time PCR 以及内部人 8 重 PCR 检测测试 PCR 兼容性。

经确认，表 9 中列出的物质均未对样本制备产生负面影响。

交叉污染

DNA 血液

通过在 QIAasymphony SP 仪器上使用批次纵横交替（阳性和阴性样本交替）执行 4 次 96 四样本运行来分析 QIAasymphony DNA 血液应用交叉污染的风险，因完全阴性批次中断。使用男性血液（含 WBC 计数 $\geq 1.0 \times 10^7$ 个细胞/ml，女性血液含 WBC 计数在 4.0×10^6 和 9×10^6 个细胞/ml 之间）作为模型系统。使用涵盖最高样本体积的血液 1000 μ l 方案进行样本制备。针对提取运行过程中，女性阴性样本的潜在污染，通过随后的洗脱液分析（real-time PCR 检测 Y 染色体）进行评估。

未检测到样本间、批次间或运行间存在交叉污染。

符号

本文档中出现了以下符号。有关使用说明或包装和标签上所用符号的完整列表，请参阅手册。

符号	符号定义
	本产品符合体外诊断医疗器械法规 (EU) 2017/746 的要求。
	体外诊断医疗器械
	目录编号
Rn	R 表示使用说明为修订版，n 为修订版本号
	制造商

修订历史

修订版本	说明
R1, 2022 年 6 月	第 2 版, 修订 1 <ul style="list-style-type: none">更新到第 2 版以符合 IVDR增加了干扰性物质、交叉污染、洗脱液稳定性和下游应用兼容性章节

有关最新许可信息以及产品特定免责声明, 请参阅相应的 QIAGEN 试剂盒手册或用户手册。QIAGEN 试剂盒手册和用户手册可从 www.qiagen.com 下载或从 QIAGEN 技术服务部门以及您当地的经销商处获得。

商标: QIAGEN[®]、Sample to Insight[®]、QIAsymphony[®]、QIAamp[®]、EZ1[®]、UltraRun[®] (QIAGEN Group); BD[™]、Vacutainer[®] (Becton Dickinson and Company); Sarstedt[®]、S-Monovette[®] (Sarstedt AG and Co.)。本文中使用的注册名称、商标等, 即便未专门标记, 也不得视为不受法律保护。

06/2022 HB-3029-D01-001 © 2022 QIAGEN, 保留所有权利。

