



2022 年 6 月

QIAsymphony® DSP DNA Kit 使用說明 (操作程序表單)

組織_LC_200_V7_DSP 及組織_HC_200_V7_DSP 操作程序

第 2 版



供體外診斷使用

適用於 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (192)



937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 德國

R1

操作程序電子檔可在產品頁面的資源索引標籤下找到
www.qiagen.com。

一般資訊

QIAasymphony DSP DNA Kit 適用於體外診斷用途。

操作程序適用於使用 QIAasymphony SP 及 QIAasymphony DSP DNA Mini Kit 從組織及福馬林固定石蠟包埋 (Formalin-fixed, Paraffin-embedded, FFPE) 組織純化總 DNA。

我們建議依據樣本類型選擇使用低含量 (Low Content, LC) 或高含量 (High Content, HC) 操作程序。使用高含量操作程序可以從組織中獲得更高的 DNA 產量，但若需要高 DNA 濃度，可以低含量操作程序搭配小洗脫體積 (50 µl)。針對 FFPE 組織建議使用低含量操作程序。

低含量操作程序

試劑組	QIAasymphony DSP DNA Mini Kit (產品編號 937236)
樣本材料	FFPE 組織及組織* 一次製備最多 4 個 FFPE 組織切片，每個切片的厚度不超過 10 µm，或 8 個切片，厚度不超過 5 µm，表面積不超過 250 mm ² 。
操作程序名稱	Tissue_LC_200_V7_DSP
預設檢測對照集	ACS_Tissue_LC_200_V7_DSP
溶析體積	50 µl, 100 µl, 200 µl, 或 400 µl
所需軟體版本	版本 4.0 以上
作為 IVD 使用時所需的軟體配置	預設檔案 1

* 組織樣本相關資訊請參見高含量操作程序。

高含量操作程序

試劑組	QIAasymphony DSP DNA Mini Kit (產品編號 937236)
樣本材料	組織 若沒有適用於所需預期產量的資訊，建議以 25 mg 樣本材料開始操作。樣本量可依據所獲得的產量在後續製備中增加。
操作程序名稱	Tissue_HC_200_V7_DSP
預設檢測對照集	ACS_TissueHLC_200_V7_DSP
溶析體積	50、100、200 或 400 µl
所需軟體版本	版本 4.0 以上
作為 IVD 使用時所需的軟體配置	預設檔案 1

需要但未提供的材料

針對所有樣本類型

- Buffer ATL 4 x 50 ml (產品編號 939016)
- 為盡可能減少 RNA 含量 DNase-free RNase A (存貨溶液 100 mg/ml)

針對 FFPE 組織（非二甲苯脫蠟）

- Deparaffinization Solution (產品編號 939018)

針對 FFPE 組織（二甲苯脫蠟）

- 二甲苯 (99-100%)
- 乙醇 (96 - 100%)*

「Sample」（樣本）抽屜

樣本類型	FFPE 組織及組織
樣本體積	220 µl (每樣本、每操作程序所需)*
處理的樣本體積	200 µl
主要樣本試管	不適用
次要樣本試管	更多資訊請參閱實驗室用品清單，可在產品頁面的資源索引標籤下找到： www.qiagen.com 。
插件	更多資訊請參閱實驗室用品清單，可在產品頁面的資源索引標籤下找到： www.qiagen.com 。

* 針對高含量和低含量操作程序，如果樣本體積小於 220 µl，系統將無法辨識，因為樣本轉移是在沒有液位偵測的情況下進行的。因此請確保輸入的樣本體積為 220 µl。
n/a = 不適用。

「Reagents and Consumables」（試劑和消耗品）抽屜

位置 A1 及/或 A2	試劑盒 (RC)
位置 B1	不適用
吸頭架固定器 1 - 17	拋棄式過濾吸頭，200 或 1500 µl
單位盒固定器 1 - 4	含樣本製備試劑匣和 8-Rod Covers 的單位盒

n/a = 不適用。

*不要使用含有甲醇或甲基乙基酮等額外物質的變性乙醇。

「Waste」（廢液）抽屜

單位盒固定器 1 - 4	空的單位盒
廢液袋固定器	廢液袋
廢液瓶固定器	倒空廢液瓶

「Eluate」（洗脫液）抽屜

洗脫架（建議使用插槽 1，冷卻位置）

更多資訊請參閱實驗室用品清單，可在產品頁面的資源索引標籤下找到：
www.qiagen.com。

所需的塑膠用品

塑膠用品	一批次 24 份樣本*	兩批次 48 份樣本*	三批次 72 份樣本*	四批次 96 份樣本*
Disposable filter-tips, 200 µl [†]	26	50	74	98
Disposable filter-tips, 1500 µl [†]	72	136	200	264
Sample prep cartridges [‡]	21	42	63	84
8-Rod Covers [§]	3	6	9	12

* 每個批次使用少於 24 個樣本，減少了每次運行所需的拋棄式過濾吸頭數量。

[†] 每個吸頭架有 32 個過濾吸頭。

[‡] 所需的過濾吸頭數目包括用於每個試劑盒 1 次存量掃描的過濾吸頭。

[§] 每個單位盒有 28 個樣本製備試劑匣。

[¶] 每個單位盒有 12 個 8-Rod Covers。

備註：依據不同的設定，過濾吸頭數量可能與觸控螢幕顯示的數量不同。建議載入最大的可能吸頭數量。

溶析體積

在觸控螢幕選擇溶析體積。根據樣本類型和 DNA 含量，最終體積可能比所選擇的體積少 15 µl。因為溶析體積可能有所不同，建議使用自動檢測設定系統檢查實際析出液體積，此系統在轉移前不會驗證析出液體積。較低的溶析體積可以增加最後的 DNA 濃度，但產量會稍微下降。建議使用適用於預計執行的下游應用的溶析體積。

製備樣本材料

在操作化學物質時，務必穿戴合適的實驗室工作服、拋棄式手套和護目鏡。更多資訊請參閱相應的安全資料表 (Safety Data Sheets, SDS)，可向產品供應商索取。

有關一般收集、運送和存放建議，請參見已核准的 CLSI 指南 MM13-A 「用於分子方法的檢體的收集、運送、製備和存放」。

開始前需完成的事項

- 檢查 Buffer ATL 是否有白色沉澱物。若有需要，置於 37°C 30 分鐘並間或搖動，使沉澱物溶解。
- 將 ThermoMixer 或振盪器培養箱設定為相對應預處理所需的溫度。

組織

新鮮及冷凍組織皆可使用於 DNA 純化。DNA 產量及品質依據組織種類、來源及存放條件而有所不同。新鮮組織可在剪成小片段後儲存於 -20°C 或 -80°C 等待處理。一般而言，建議使用高含量操作程序，以提供高 DNA 產量。搭配 50 µl 溶析體積的低含量操作程序只建議在下游分析需要高濃度 DNA 時使用。若沒有適用於所需預期產量的資訊，建議以 25 mg 樣本材料開始操作，並使用高含量操作程序搭配 200 µl 溶析體積。依據所獲得的產量，可在後續製備中增加樣本量或降低溶析體積。請注意，過量裝載製備物加上小溶析體積可能會導致磁性粒子汙染析出液，並可能影響 DNA 純度和下游分析。

備註：操作冷凍組織樣本時，應考慮從冷凍組織樣本中自動萃取 NA 的 ISO 20184-3:2021 (E)。

備註：樣本穩定性受多種因素以及特定下游應用高度影響。使用者有責任確認其實驗室所使用的特定下游應用之使用說明，並/或確效整體工作流程以建立適當的儲存條件。

組織的預處理操作程序

1. 將組織樣本轉移至 2 ml 微量離心管（未提供）。
2. 添加 220 µl Buffer ATL。
3. 添加 20 µl 蛋白酶 K，並輕敲離心管。

備註：使用來自 QIASymphony DSP DNA Mini Kit 的酵素架之蛋白酶 K。

4. 將試管放入 ThermoMixer 或振盪器-保溫箱，在 56°C 下以 900 rpm 振盪，直到組織完全溶解為止。

備註：溶解時間隨處理的組織類型而異。大部分組織應於 3 小時內完全溶解，若 3 小時後有不可溶物質存在，或溶胞物高度黏稠，顯示溶解未完成，可延長溶解時間，或者透過步驟 6 中的離心移除不可溶物質。可隔夜溶解，且不會影響製備。

5. 為了減少樣本中的 RNA 含量，添加 4 µl RNase A (100 mg/ml) 到下段液相，並在室溫 (15 – 25°C) 下靜置 2 分鐘，再繼續步驟 6。
6. 透過上下抽吸樣本數次使樣本均質化。

備註：若仍有不可溶物質片段存在，以 3000 x g 離心 1 分鐘。

7. 小心地轉移 220 µl 上清液至與 QIASymphony SP 樣本適配器相容的樣本試管中。
8. 相容的樣本試管清單請參見 www.qiagen.com 所提供的實驗室儀器清單。建議使用 2 ml 試管（例如 Sarstedt，產品編號 72.693 或 72.608）。

FFPE 組織

標準 FFPE 程序通常會導致明顯的核酸破碎。為了限制 DNA 破碎程度，請確保：

- 在手術移除後儘快用 4 – 10% 的福馬林溶液固定組織樣本
- 固定時間 14-24 小時（更長的固定時間可能導致更嚴重的 DNA 破碎，導致在下游檢測中效能較差）
- 包埋前為樣本徹底脫水（殘留的福馬林可能會抑制蛋白酶 K 反應）

純化 DNA 的起始材料應為新鮮切割的 FFPE 組織切片。一次製備中最多操作 4 個切片，每個切片的厚度不超過 10 µm，或 8 個切片，厚度不超過 5 µm，表面積不超過 250 mm²。如果沒有關於您所使用的起始材料性質的資訊，建議在一次製備中從不超過 3 個切片開始。取決於 DNA 產量和純度，您可隨後最多使用 8 個切片。

備註：操作 FFPE 組織時，應考慮從 FFPE 組織樣本中自動萃取 NA 的 ISO 20166-3:2018 (E) 作為操作樣本的額外資訊。

備註：FFPE Tissue 操作程序設計經過特殊設計，只會同時純化低量 RNA。與 QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue Kit 使用手冊獲得的值相比，這將導致光度讀值降低。

FFPE 組織的預處理操作程序

方法 1：使用 Deparaffinization Solution 進行脫蠟

1. 用解剖刀修剪掉樣塊上多餘的石蠟。
2. 切最多 4 個 10 µm 厚切片，或最多 8 個 5 µm 厚切片。
備註：如果樣本表面曾暴露在空氣中，則丟棄前 2-3 個切片。
3. 立即將切片放入與 QIASymphony SP 樣本適配器相容的 2 ml Sarstedt 試管（未提供，產品編號 72.693 或 72.608）。
4. 添加 200 µl Buffer ATL 到切片中。
5. 添加 20 µl 蛋白酶 K。
備註：使用來自 QIASymphony DSP DNA Mini Kit 的酵素架之蛋白酶 K。
6. 添加 160 µl 或 320 µl Deparaffinization Solution（參見表 hereafter）並振盪混合。

切片厚度	切片數量	Deparaffinization Solution 的容量
5 µm	1 – 4	160 µl
	5 – 8	320 µl
10 µm	1 – 2	160 µl
	3 – 4	320 µl

7. 將試管放入 ThermoMixer 或振盪器-保溫箱，在 56°C 下保溫 1 小時並以 1000 rpm 振盪，直到組織完全溶解為止。

備註：溶解時間隨處理的組織類型而異。大部分組織應於 1 小時內完全溶解，若 1 小時後不可溶物質存在，顯示溶解未完成，可延長溶解時間，或者透過步驟 10 中的離心讓不可溶物質結塊。可隔夜溶解，且不會影響製備。

8. 在 90°C 下靜置 1 小時。

備註：在 Buffer ATL 中於 90°C 下靜置，會部分逆轉核酸的甲醛修飾。較長的靜置時間或較高的靜置溫度，可能會導致更片段化的 DNA。如果僅使用一個加熱塊，則在 56°C 保溫後讓樣本冷卻到室溫直至加熱塊溫度達到 90°C。

9. 為了減少樣本中的 RNA 含量，添加 2 µl RNase A (100 mg/ml) 到下段液相，並在室溫下靜置 2 分鐘，再繼續步驟 10。先讓樣本冷卻到室溫，再添加 RNase A。
10. 在室溫下全速離心 1 分鐘。
11. 小心將試管（含兩個液相）轉移到 QIAasymphony SP 的樣本托架。

方法 2：使用二甲苯進行脫蠟

1. 用解剖刀修剪掉樣塊上多餘的石蠟。
2. 切最多 4 個 10 µm 厚切片，或最多 8 個 5 µm 厚切片。
備註：如果樣本表面曾暴露在空氣中，則丟棄前 2-3 個切片。
3. 立即將切片放入 1.5 或 2 ml 微量離心管（未提供），並添加 1 ml 二甲苯至樣本。蓋上蓋子並劇烈振盪 10 秒。
4. 在室溫下全速離心 2 分鐘。
5. 透過抽吸移除上清液。請勿移除任何沉澱。
6. 加入 1 ml 酒精 (96 - 100%) 至沉澱並以振盪混合。
備註：酒精會將殘留的二甲苯從樣本中分離。
7. 在室溫下全速離心 2 分鐘。
8. 透過抽吸移除上清液。請勿移除任何沉澱。
備註：小心使用滴管吸頭將所有殘留酒精移除。
9. 打開試管並放置在室溫 (15-25°C) 10 分鐘直到所有殘留酒精都蒸發。
備註：放置的溫度條件最高不超過 37°C。
10. 以 220 µl Buffer ATL 使沉澱重新懸浮。
11. 添加 20 µl 蛋白酶 K，並振盪混合。
備註：使用來自 QIAasymphony DSP DNA Mini Kit 的酵素架之蛋白酶 K。
12. 在 56°C 下靜置 1 小時（或直到樣本已完全溶解）。
備註：溶解時間隨處理的組織類型而異。大部分組織應於 1 小時內完全溶解，若 1 小時後不可溶物質存在，顯示溶解未完成，可延長溶解時間，或者透過步驟 16 中的離心移除不可溶物質。可隔夜溶解，且不會影響製備。
13. 在 90°C 下靜置 1 小時。
備註：在 Buffer ATL 中於 90°C 下靜置，會部分逆轉核酸的甲醛修飾。較長的靜置時間或較高的靜置溫度，可能會導致更片段化的 DNA。如果僅使用一個加熱塊，則在 56°C 保溫後讓樣本冷卻到室溫直至加熱塊溫度達到 90°C。
14. 稍微離心樣本，以去除蓋子內側的液滴。
15. 為了減少樣本中的 RNA 含量，添加 2 µl RNase A (100 mg/ml)，並在室溫下靜置 2 分鐘，再繼續步驟 16。先讓樣本冷卻到室溫，再添加 RNase A。
16. 小心地轉移 220 µl 溶胞物至與 QIAasymphony SP 樣本適配器相容的樣本試管中。
備註：若溶胞物中含有未消化材料，於轉移上清液到樣本試管前，在室溫下全速離心 2 分鐘。相容的樣本試管清單請參見 www.qiagen.com 所提供的實驗室儀器清單。建議使用 2 ml 試管（例如 Sarstedt，產品編號 72.693 或 72.608）。

析出液保存

建議運行結束後立即從「Eluate」（洗脫液）抽屜中取出析出液盤。隔夜運行完成後，洗脫液盤可保留在 QIAAsymphony SP 中（包括運行時間在內，最多 12 小時；建議的環境條件：18–26°C 及 20–75% 相對濕度）。視溫度和濕度而定，析出液可能會冷凝或蒸發。

析出液可短期保存在室溫中持續最多 2 週。長期存放建議存放在 2-8°C、-20°C 或 -80°C。

備註：析出液穩定性受多種因素以及特定下游應用高度影響。皆為 QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit 搭配範例下游應用使用時建立。使用者有責任確認其實驗室所使用的特定下游應用之使用說明，並/或確效整體工作流程以建立適當的儲存條件。

開始前重要提示

- QIAAsymphony 磁性粒子會同時純化樣本中存在的 RNA 和 DNA。若需要獲得不含 RNA 的 DNA，在預處理操作程序中指示的步驟，將 RNase A 加入樣本中。

限制與干擾物質

QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit 的開發過程中未鑑定到任何會對樣本製備產生負面影響的干擾物質。

備註：使用範例下游應用進行測試，以評估萃取的核酸品質。然而，不同的下游應用可能對純度有不同的要求（例如潛在干擾物質的存在），因此相關物質的鑑定和測試也需要作為任何 QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit 相關下游應用開發時的一部分被建立。

符號

此文件使用下列符號。有關使用說明或包裝及標籤上使用的符號的完整列表，請參閱使用手冊。

符號	符號定義
	此產品符合歐洲體外診斷醫療器材相關指令 (2017/746) 的要求。
	體外診斷醫療器材
	產品編號
Rn	R 是表示使用說明的修訂版，而 n 是修訂版號
	製造商

修訂歷程記錄

修訂	描述
R1, 2022 年 6 月	版本 2, 修訂 1 <ul style="list-style-type: none">更新到版本 2 以符合 IVD新增限制與干擾物質部分新增析出液保存部分新增符號部分更新樣本材料製備部分

最新的授權資訊和個別產品的免責聲明，請參閱各 QIAGEN® 試劑組使用手冊或使用者手冊。QIAGEN 試劑組使用手冊和使用者手冊可從 www.qiagen.com 下載，或向 QIAGEN 技術服務部或您當地經銷商索取。

商標：QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™ (Becton Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.)。即使未特別標明，本文件中使用的註冊名稱、商標等也不應視為不受法律保護。
06/2022 HB-3029-S07-001 © 2022 QIAGEN, 保留所有權利。