

QIAamp[®] DSP Circulating NA Kit 사용 지침(성능 특징)

버전 2



체외 진단용

QIAamp DSP Circulating NA Kit 용



61504



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germany

R1

성능 특징은 전자 문서로 제공되며 www.qiagen.com 의 제품 페이지 Resources(리소스) 탭에서 확인할 수 있습니다.

일반 개요

QIAamp DSP Circulating NA Kit 는 실리카 막 기술(QIAamp 기술)을 사용하여 인간 혈액 혈장 검체에서 순환 무세포(circulating cell-free, ccf) DNA 및 RNA 를 수동으로 분리 및 정제하는 시스템입니다.

이 제품은 분자생물학 기법 교육을 받은 기술자 및 의사와 같은 전문 사용자가 사용해야 합니다.

QIAamp DSP Circulating NA Kit 는 체외 진단용입니다.

정제된 핵산(Nucleic Acids, NA) 수율

혈장 검체는 정제된 핵산 수율에 큰 차이가 나타날 수 있습니다. 따라서, 사용자는 해당 실험실에서 특정 표적과 다운스트림 공정에 대한 혈장 주입량과 용출량을 최적화해야 합니다.

키트를 QIAGEN® 다운스트림 공정과 함께 사용하는 경우, 관련 안내서의 지침을 참고하십시오.

다운스트림 공정 분석

QIAamp DSP Circulating NA Kit 로 분리한 핵산은 다른 다운스트림 공정에서 사용할 수 있습니다. 성능 평가를 위해 3 개의 다른 채혈 튜브(Becton Dickinson and Company 의 BD Vacutainer® K2EDTA Tube, PreAnalytiX GmbH 의 PAXgene® Blood ccfDNA Tube, Streck 의 Streck® Cell-Free DNA Blood Collection Tube (BCT)®, 공여자 각 $n = 24$ 명)를 사용하여 같은 공여자의 혈장에서 핵산을 분리했습니다. 혈장 주입량 1ml 에서 나온 용출액을 정량 PCR(quantitative PCR, qPCR, 그림 1A), 디지털 미세방울 PCR(digital droplet PCR, ddPCR, 그림 1B), RNA 에 대한 역전사 qPCR(reverse transcription qPCR, RT-qPCR)(BD Vacutainer K2EDTA Tube 혈장에만 해당, 그림 2)을 사용하여 검사했습니다.

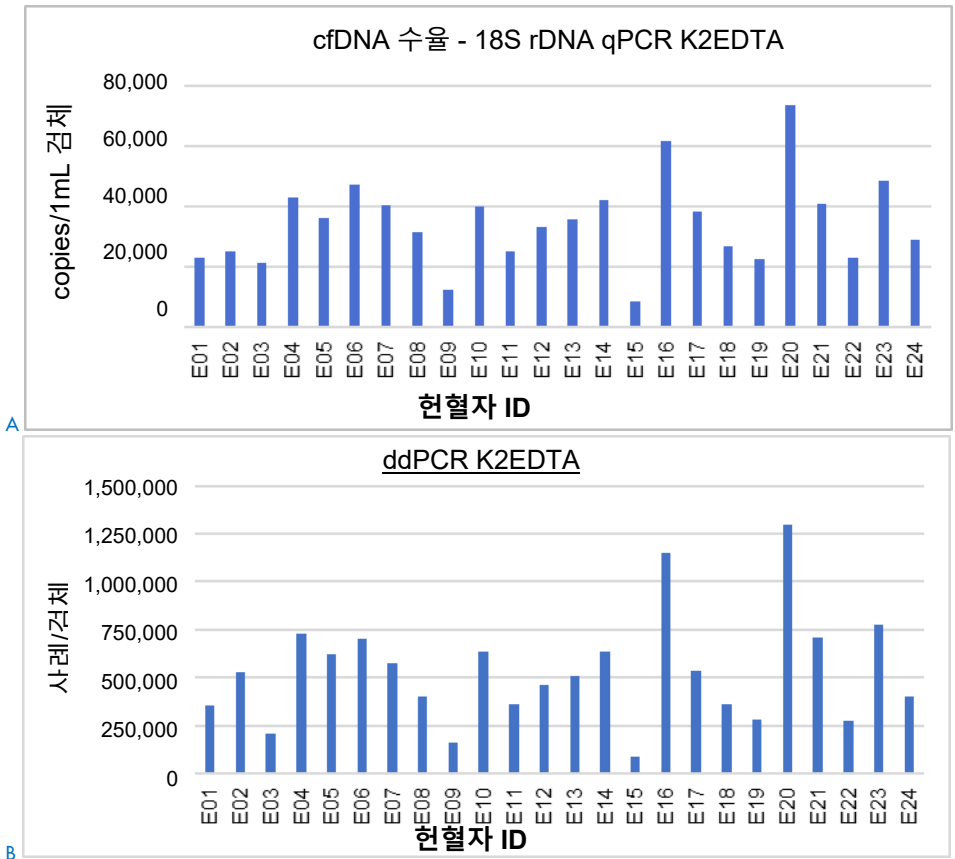


그림 1. qPCR 및 ddPCR(Bio-Rad®) 간의 같은 공여자 혈장(주입량 1ml) 비교

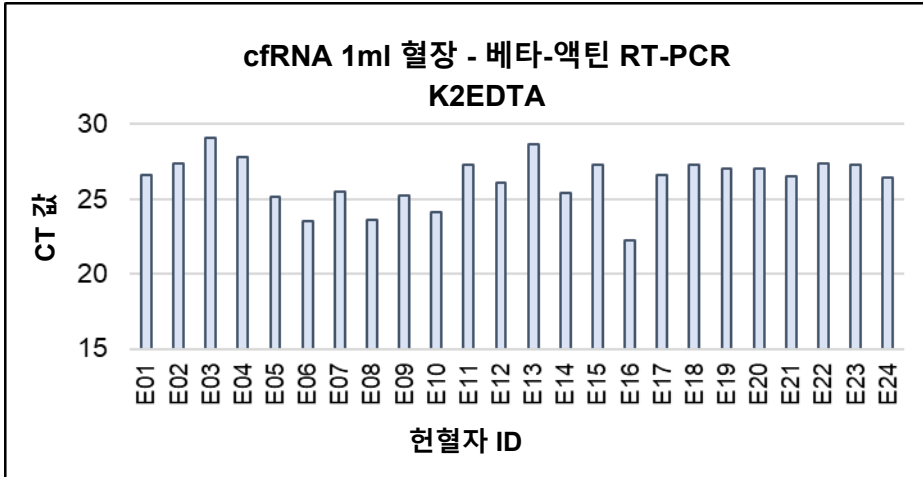


그림 2. 인간 베타-액틴 유전자(절편 길이 293bp)에 대한 RT-qPCR 분석을 사용하여 같은 공여자 혈장(주입량 1ml)에서 무세포 RNA 검출.

차세대 염기서열 분석(Next Generation Sequencing, NGS)을 위해, 5ml 의 혈장 주입량에서 용출액(BD Vacutainer K2EDTA Tube, PAXgene Blood ccfDNA Tube, Streck Cell-Free DNA BCT, 공여자 각 $n = 8$ 명)을 생성했습니다. 5ml 에 대한 총 DNA 수율의 범위는 50~150ng DNA 였으며, Qubit® HS dsDNA 분석으로 검출했습니다. NGS 분석은 GeneRead® QIAact Actionable Insights Tumor Panel 및 GeneReader® 시스템을 사용하여 수행했습니다. 모든 검체는 성공적으로 농축되었으며 라이브러리가 생성되었습니다. 생성된 판독의 98% 이상이 인간 유전체로 매핑되었으며, 관심 대상 영역 내 위치의 >99.8%에서 기본 커버리지가 $\geq 500x$ 였습니다.

두 핵산 종(DNA 및 RNA) 모두에서 다운스트림 기술 공정이 성공적으로 나타났습니다(그림 3).

	qPCR	ddPCR	RT-qPCR	NGS
K2EDTA	✓	✓	✓	✓
PAXgene	✓	✓	검사하지 않음	✓
Streck	✓	✓	검사하지 않음	✓

그림 3. 서로 다른 다운스트림 공정을 통한 분리된 핵산의 성공적인 사용.

사용자는 해당 실험실에서 사용하는 표적 분자 및 모든 후속 절차에 대한 혈장 주입량과 용출량을 최적화하거나 관련된 다운스트림 공정의 특정 성능을 참조해야 합니다.

용출액 안정성

용출액 안정성은 분리된 핵산의 함량과 유형, 용출량, 보관 조건에 따라 다릅니다. 사용자가 특정 요건의 필요에 따라 용출액 안정성을 확립할 것을 권장합니다.

용출액 안정성은 BD Vacutainer K2EDTA Tube(Becton Dickinson and Company)와 안정화 채혈 튜브(PAXgene Blood ccfDNA Tube 및 Streck Cell-Free DNA BCT)로 생성한 인간 혈장에서 얻은 DNA 및 용출액에 대해 검사하였습니다. 용출액은 $-30^{\circ}\text{C}\sim-15^{\circ}\text{C}$ 및 $-90^{\circ}\text{C}\sim-65^{\circ}\text{C}$ 에서 보관했습니다. 최대 12 개월 동안 변질이 관찰되지 않았습니다. $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 및 실온($15\sim 25^{\circ}\text{C}$)에서 보관한 용출액은 최대 48 시간 동안 안정적이었습니다. 모든 조건은 인간 18S rDNA 유전자를 표적으로 하는 qPCR 을 사용하여 평가하였습니다.

용출액 안정성은 BD Vacutainer K2EDTA Tube(Becton Dickinson and Company)로 생성한 인체 혈장에서 얻은 RNA 및 용출액에 대해 검사했습니다. 용출액은 $-30^{\circ}\text{C}\sim-15^{\circ}\text{C}$ 및 $-90^{\circ}\text{C}\sim-65^{\circ}\text{C}$ 에서 보관했습니다. 최대 6 개월 동안 변질이 관찰되지 않았습니다. $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 에서 보관한 용출액은 최대 48 시간 동안 안정적이었습니다. 모든 조건은 인간 베타-액틴 유전자를 표적으로 하는 RT-qPCR 을 사용하여 평가하였습니다.

키트를 QIAGEN 다운스트림 공정과 함께 사용하는 경우, 관련 키트 안내서의 지침을 참고하십시오.

NA 분리 정밀도

인간 혈장을 사용하여 정밀도를 평가하였고, 인간 18S rDNA 유전자를 표적으로 하는 qPCR 을 사용하여 조건을 평가했습니다.

실험 설정은 각 12 개의 복제물을 사용한 12 회의 정제 실행(총 144 회 정제)로 구성되었습니다. 정제 실행은 3 명의 다른 사용자가 3 개의 다른 QIAamp DSP Circulating NA Kit 로트를 사용하여 3 대의 다른 기기에서 3 개의 다른 날짜에 수행하였습니다. 각 단일 매개변수 및 QIAamp DSP Circulating NA Kit 의 전체 변동성(합계)에 대한 표준 편차(Standard Deviation, SD)와 변동 계수(Coefficient of Variation, CV)를 결정했습니다(표 1).

표 1. 정밀도 결과

정밀도			
매개변수	평균 Copies/ml	SD	CV(%)
실행 간		461	1.78
사용자 간		1392	5.38
기기 간		228	0.88
실행일 간	25,894	2096	8.09
로트 간		969	3.74
총		3120	12.05

선형성

BD Vacutainer K2EDTA Tube, PAXgene Blood ccfDNA Tube 및 Streck Cell-Free DNA BCT 에 보관된 혈액에서 1~5ml 의 혈장 주입량에 대한 데이터를 생성했습니다. 모든 BCT 에 대해 DNA 수율의 선형 증가가 관찰되었으며(그림 4 참고), BD Vacutainer K2EDTA Tube 의 경우에도 RNA 에 대한 선형 증가가 관찰되었습니다.

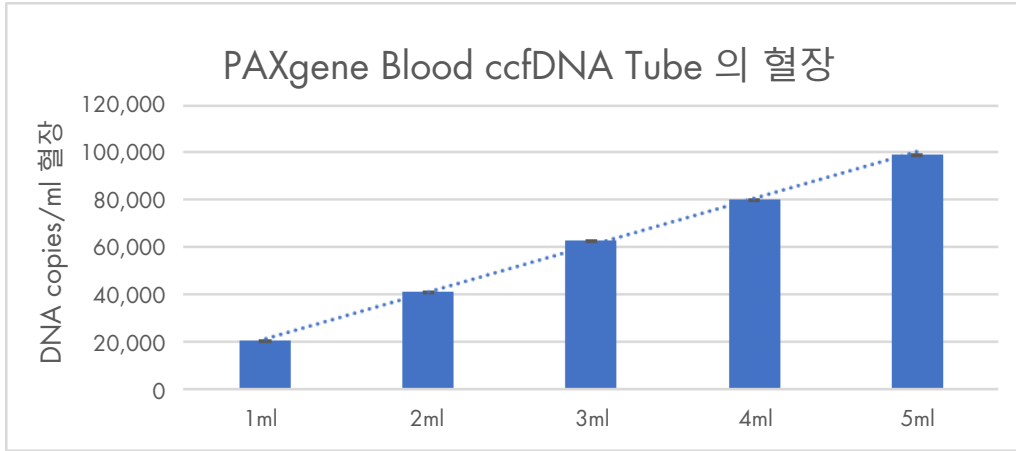


그림 4. 서로 다른 혈장 주입량에 대한 총 DNA 수율(DNA copies/ml 혈장 주입량)의 선형 증가. 표시된 PAXgene Blood ccfDNA Tube 에서 생성된 혈장 데이터로, BD Vacutainer K2EDTA Tube(DNA/RNA) 및 Streck Cell-Free DNA BCT 에서 얻은 혈장에 대한 결과에 상응합니다.

프로토콜 등가성(Breeze/전형 프로토콜)

Ct 값(RNA) 또는 평균 copies/ml(DNA)의 차이에 상응하는 95% 신뢰 한계가 $\pm 2 \times SD$ 임을 나타냄으로써 Breeze 프로토콜과 전형 프로토콜 간의 성능 등가성이 정해졌습니다. 여기서 SD 는 전형 프로토콜에서 관찰된 정밀도(기준 조건)입니다. 3 개의 키트 로트를 사용하였고 3 명의 사용자가 실험을 수행하였습니다.

Breeze 프로토콜에 대해 생성된 Ct 값의 총정밀도는 전형 프로토콜의 총정밀도에 대한 양측 95% 정밀도 구간의 상한보다 낮았으며, 여기서 검사 내 예측 구간은 검사의 전형 프로토콜 데이터($n = 143$)와 Breeze 프로토콜의 데이터 포인트 수($n = 144$)를 사용하여 계산했습니다.

간섭 물질

잠재적 간섭 물질은 다양한 원인으로 인해 발생할 수 있습니다. 예를 들어, 천연 대사물질, 환자 치료 중 유입되는 물질 또는 환자가 섭취한 물질 등이 있습니다. QIAamp DSP Circulating NA Kit의 경우 내인성 요소로 헤모글로빈, 트리글리세라이드, EDTA, 카페인, 알부민, 결합 빌리루빈, 비결합 빌리루빈을 검사했습니다. 다운스트림 공정으로 qPCR 적용 시 간섭이 발견되지 않았습니다. 또한 검체 처리 및 핵산 추출 과정 중 QIAamp DSP Circulating NA Kit 구성품(단백분해효소 K, Buffer ACL, Buffer ACB, Buffer ACW1, Buffer ACW2, 에탄올)으로 인한 간섭도 관찰되지 않았습니다.

잠재적 간섭 물질의 복잡성과 특정 다운스트림 공정의 상이한 민감도로 인해, 사용자가 자신의 작업 흐름에 대한 특정적인 간섭 물질의 영향을 평가하고 특정 진단 다운스트림 공정에서 간섭 제어 방법을 검증할 것을 권장합니다.

특정 QIAGEN 다운스트림 공정에서의 간섭 물질에 대한 자세한 정보는 관련 키트 안내서를 참고하십시오.

교차 오염

교차 오염 수준을 평가하기 위해 음성 검체만 포함하는 추출 실행을 교대로 수행하는 체커판 설정에서 5ml 또는 2ml의 인체 혈장(양성 검체)에 HBV 바이러스 105 copies를 스파이크한 후 (추출 실행 내 및 추출 실행 간 교차 오염을 평가하기 위해) 바이러스가 없는 검체(음성 검체) 옆에서 분리했습니다. 이 검사는 고농도의 핵산 표적 분자를 포함하는 검체가 추출 과정에서 다른 검체와 교차 오염을 일으킬 수 있는 상황을 모방하는 것이 목적입니다. 한 가지 로트의 시약을 사용하여 NA 정제를 수행하였습니다. 교차 오염은 *artus*[®] HBV RG CE PCR Kit를 사용하여 평가하였습니다. 전체 시스템에서 교차 오염이 없다는 결과가 나왔습니다.

기호



이 제품은 체외 진단 의료 기기에 대한 유럽 규정 2017/746 의 요구 사항을 충족합니다.



체외 진단용 의료 기기



카탈로그 번호



제조업체

Rn

R 은 사용 지침(성능 특징)의 개정판 버전을 나타내며, n 은 개정판 번호입니다

문서 개정 이력

개정판

설명

R1, 2022년 6월

IVDR 호환 QIAamp DSP Circulating Kit V2 업데이트

용도에 '수동' 분리 추가. 키트 버전 1과 비교하여 성능 데이터는 변경되지 않음.

최신 라이선스 정보 및 제품별 면책 사항은 각 QIAGEN 키트 안내서 또는 사용 설명서를 참고하십시오. QIAGEN 키트 안내서와 사용 설명서는 www.qiagen.com 에서 확인하거나 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 요청할 수 있습니다.

상표: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, *artus*®, GeneRead®, GeneReader®(QIAGEN 그룹), Vacutainer®(Becton Dickinson and Company), Bio-Rad®(Bio-Rad Laboratories, Inc.), PAXgene®(PreAnalytiX GmbH), Streck®, Cell-Free DNA BCT®(Streck Inc.), Qubit®(Thermo Fisher Scientific 또는 그 자회사). 이 문서에 사용된 등록된 이름, 상표 등은 별도로 표시되지 않은 경우에도 법적 보호를 받는 것으로 간주됩니다.

06/2022 HB-3049-D01-001 © 2022 QIAGEN, 모든 권리 보유.

