

# QIAamp<sup>®</sup> DSP Circulating NA Kit 使用说明（性能特点）

第 2 版



供体外诊断使用

与 QIAamp DSP Circulating NA Kit 一起使用



61504



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 德国

R1 性能特点以电子方式提供且可以在 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 产品页面“资源”标签下找到。

## 一般说明

QIAamp DSP Circulating NA Kit 是采用硅胶膜技术（QIAamp 技术）从人血浆样本中手动分离和纯化循环中的游离 (ccf) DNA 和 RNA 的系统。

该产品旨在供专业用户使用，例如，在分子生物技术方面经过培训的技术员和医师。

QIAamp DSP Circulating NA Kit 旨在用于体外诊断。

## 纯化核酸 (Nucleic Acids, NA) 产量

在纯化核酸的提取产量方面，血浆样本可能会表现出很大的差异。因此，用户应该根据其实验室的具体目标和下游应用优化血浆的样本量和洗脱体积。

如果将试剂盒与 QIAGEN® 下游应用配合使用，请参阅相关的说明手册。

## 下游应用分析

使用 QIAamp DSP Circulating NA Kit 分离核酸后，可以将其用于不同的下游应用。为了评估性能，使用三种不同的血液采样管（BD Vacutainer® K2EDTA Tube, Becton Dickinson and Company; PAXgene® Blood ccfDNA Tube, PreAnalytiX GmbH; 以及 Streck® Cell-Free DNA Blood Collection Tube (BCT)®, Streck;  $n =$  各管 24 个供体）对单个供体的人体血浆中的核酸进行了分离。使用定量 PCR（quantitative PCR, qPCR, 图 1A）、数字微滴式 PCR（digital droplet PCR, ddPCR, 图 1B）和 RNA 逆转录 qPCR (Reverse Transcription qPCR, RT-qPCR)（仅 BD Vacutainer K2EDTA Tube 血浆, 图 2）对 1 ml 血浆样本量中的洗脱液进行了测试。

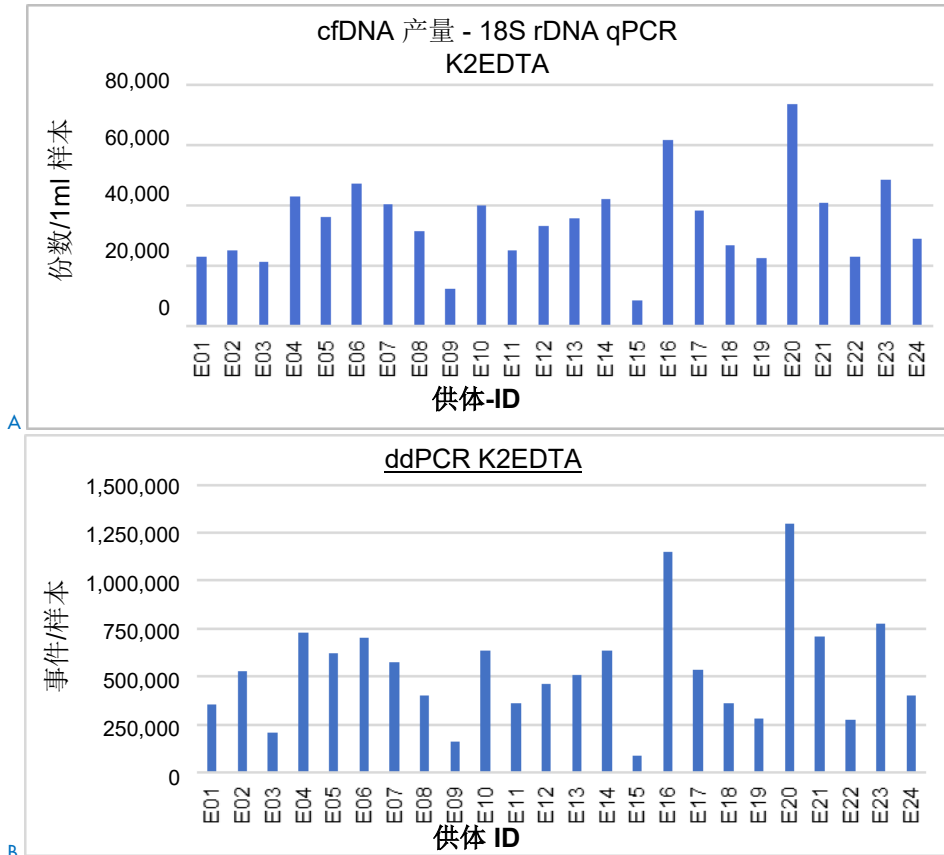


图 1.qPCR 与 ddPCR (Bio-Rad®) 之间单供体血浆 (1 ml 样本量) 的比较

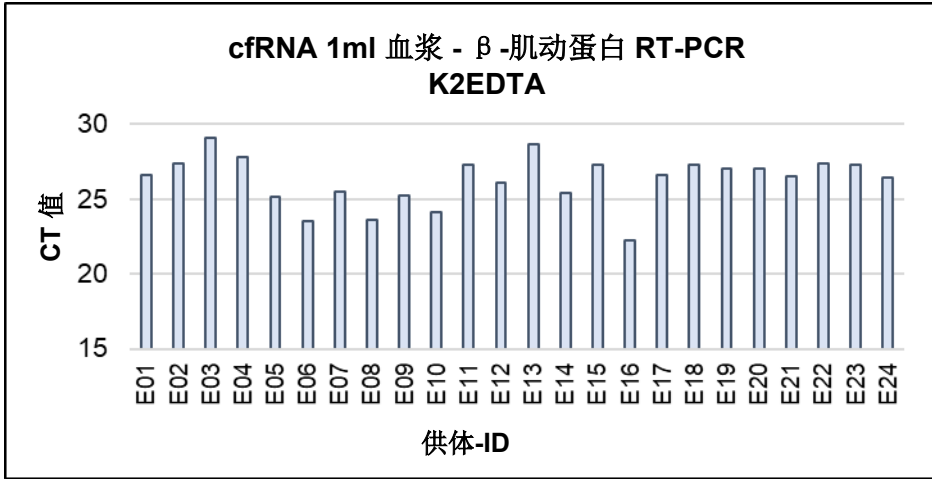


图 2. 使用 RT-qPCR 测定法检测单供体血浆（1 ml 样本量）游离 RNA 中的人类 β 肌动蛋白基因（293 bp 片段长度）。

对于新一代测序 (Next Generation Sequencing, NGS) 分析，利用 5 ml 血浆样本量（BD Vacutainer K2EDTA Tube、PAXgene Blood ccfDNA Tube 和 Streck Cell-Free DNA BCT； $n =$  各管 8 个供体）生成了洗脱液。通过 Qubit® HS dsDNA 测定检测到 5 ml 血浆的 DNA 总产量在 50 和 150 ng DNA 之间。使用 GeneRead® QIAact Actionable Insights Tumor Panel 和 GeneReader® 系统执行了 NGS 分析。所有样本均已成功强化，并已生成了库。已生成的读数中，超过 98% 的读数已映射到人类基因组，感兴趣区中 >99.8% 的位置的基准覆盖率  $\geq 500\times$ 。

对于两种核酸（DNA 和 RNA），下图显示了其对不同下游技术的成功应用（图 3）。

	qPCR	ddPCR	RT-qPCR	NGS
K2EDTA	✓	✓	✓	✓
PAXgene	✓	✓	未测试	✓
Streck	✓	✓	未测试	✓

图 3. 成功将分离的核酸用于不同的下游应用。

用户应根据其实验室的目标分子和任何后续步骤优化血浆样本量和洗脱体积，或参阅相关下游应用的具体性能。

## 洗脱液稳定性

洗脱液稳定性取决于已分离的核酸的内含物和类型、洗脱体积以及存放条件。我们建议用户根据自身的具体要求建立洗脱液稳定性。

针对 DNA 测试了洗脱液稳定性，洗脱液获取自 BD Vacutainer K2EDTA Tube (Becton Dickinson and Company) 和稳定血液采样管 (PAXgene Blood ccfDNA Tube 和 Streck Cell-Free DNA BCT) 的人血浆样本。洗脱液存放在  $-30^{\circ}\text{C}$  至  $-15^{\circ}\text{C}$  以及  $-90^{\circ}\text{C}$  至  $-65^{\circ}\text{C}$  的环境中。经过长达 12 个月的观察，未出现任何性能下降。存放在  $2 - 8^{\circ}\text{C}$  和室温 ( $15-25^{\circ}\text{C}$ ) 环境下的洗脱液最多可稳定存放 48 小时。所有条件均以人类 18S rDNA 基因为目标采用 qPCR 进行了评估。

针对 RNA 测试了洗脱液稳定性，洗脱液获取自 BD Vacutainer K2EDTA Tube (Becton Dickinson and Company) 的人血浆样本。洗脱液存放在  $-30^{\circ}\text{C}$  至  $-15^{\circ}\text{C}$  以及  $-90^{\circ}\text{C}$  至  $-65^{\circ}\text{C}$  的环境中。经过长达 6 个月的观察，未出现任何性能下降。存放在  $2 - 8^{\circ}\text{C}$  下的洗脱液最多可稳定存放 48 小时。所有条件均以人类  $\beta$  肌动蛋白基因为目标采用 RT-qPCR 进行了评估。

如果将试剂盒与 QIAGEN 下游应用配合使用，请参阅相关的试剂盒说明手册。

## 核酸分离精度

使用人血浆评估了精度，并以人类 18S rDNA 基因为目标采用 qPCR 评估了条件。

试验设置包含 12 次纯化运行（每次运行重复 12 次，共计 144 次纯化）。纯化运行是由三名不同的操作员在三个不同的日期使用三个不同批次的 QIAamp DSP Circulating NA Kit 在三台不同的仪器上进行的。针对每个参数确定了标准差 (standard deviation, SD) 和变异系数 (Coefficient of Variation, CV)，并确定了 QIAamp DSP Circulating NA Kit 的整体变异性（合计）（表 1）。

表 1. 精度结果

参数	精度		
	平均份数/ml	SD	CV (%)
运行间	25,894	461	1.78
操作员间		1392	5.38
仪器间		228	0.88
日期间		2096	8.09
批次间		969	3.74
合计		3120	12.05

## 线性

已针对 BD Vacutainer K2EDTA Tube、PAXgene Blood ccfDNA Tube 以及 Streck Cell-Free DNA BCT 中存放的血液的 1–5 ml 血浆样本量生成了数据。对于所有 BCT，观察到 DNA 产量呈线性增长（参见图 4）；对于 BD Vacutainer K2EDTA Tube，RNA 同样有此趋势。

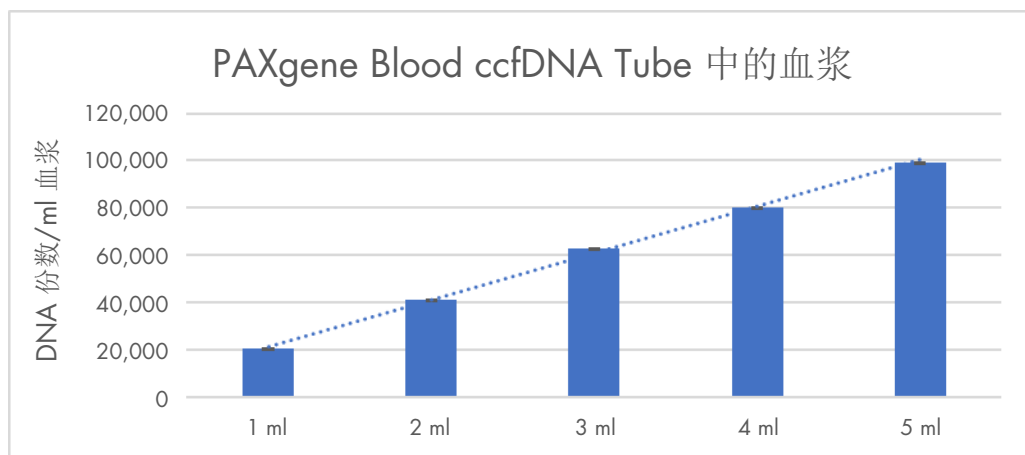


图 4. 不同血浆样本量的 DNA 总产量 (DNA 份数/ml 血浆样本) 的线性增长。图中显示的是 PAXgene Blood ccfDNA Tube 中生成的血浆的数据，BD Vacutainer K2EDTA Tube (DNA/RNA) 和 Streck Cell-Free DNA BCT 的血浆所获得的结果与其类似。

## 方案等价性 (Breeze/经典方案)

Breeze 方案和经典方案之间性能的等价性是通过以下方法确定的：证明 Ct 平均值 (RNA) 或平均份数/ml (DNA) 的相应 95% 置信度差异在  $\pm 2 \times SD$  范围内，其中 SD 指的是经典方案所观察到的精度（参考条件）。使用三个批次的试剂盒由三名操作员进行了试验。

结果显示，Breeze 方案生成的 Ct 值的总精度 (SD) 小于经典方案的总精度 (SD) 双侧 95% 预测区间的上限，其中预测区间是在研究中使用经典方案的数据 ( $n = 143$ ) 和 Breeze 方案数据点数 ( $n = 144$ ) 计算得出的。

## 干扰性物质

潜在干扰性物质可能来自不同来源，例如天然代谢物、患者治疗期间产生的物质或患者摄入的物质。对于 QIAamp DSP Circulating NA Kit，已将血红蛋白、甘油三酯、EDTA、咖啡因、白蛋白、结合胆红素和非结合胆红素作为内源性成分进行了测试。将 qPCR 用作下游应用时，未发现任何干扰。此外，在样本处理和核酸提取期间，QIAamp DSP Circulating NA Kit 中的成分（蛋白酶 K、Buffer ACL、Buffer ACB、Buffer ACW1、Buffer ACW2 和乙醇）也未产生任何干扰。

因为潜在干扰性物质的复杂性和特定下游应用不同的灵敏度，我们建议用户针对自己的工作流评估干扰性物质的影响，并对特定诊断性下游应用中用于控制干扰的方法进行验证。

有关特定 QIAGEN 下游应用的干扰性物质的更多信息，请参阅相关试剂盒手册。

## 交叉污染

为了评估交叉污染的水平，将 105 份 HBV 病毒添加到 5 ml 或 2 ml 人体血浆（阳性样本）中，并在检测板中邻近于无病毒样本（阴性样本）进行分离操作，同时交替进行只包含阴性样本的提取运行（用于评估提取内和提取间运行的交叉污染）。研究的目的是在模仿以下情况：在提取过程中，含有高水平核酸靶分子的样本可能会对其他样本产生交叉污染。使用一个批次的试剂进行了核酸纯化。使用 *artus*<sup>®</sup> HBV RG CE PCR Kit 对交叉污染进行了评估。结果显示，整个系统没有交叉污染。

## 符号

---

	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
	制造商
Rn	R 表示使用说明（性能特点）为修订版，n 为修订版本号

---



# 文档修订历史

修订版本	说明
R1, 2022 年 6 月	符合 IVDR 要求的 QIAamp DSP Circulating Kit V2 的更新 在预期用途中增加“手动”分离。与试剂盒第 1 版相比，性能数据没有变化。

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](http://www.qiagen.com) 或 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®、QIAamp®、artus®、GeneRead®、GeneReader® (QIAGEN Group)；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 或其子公司)。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-3049-D01-001 © 2022 QIAGEN，保留所有权利。

