

QIAamp® DSP Circulating NA Kit 使用說明（效能特性）

第 2 版

IVD

供體外診斷使用

可供與 QIAamp DSP Circulating NA Kit 搭配使用。

CE

REF

61504



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 德國

R1

效能特性的電子檔案，請參閱產品網頁 www.qiagen.com 的資源索引標籤。

簡介

QIAamp DSP Circulating NA Kit 系統利用矽膜技術（QIAamp 技術），可手動分離及純化人類血漿樣本的循環游離 (Circulating Cell-Free, ccf) DNA 和 RNA。

該產品旨在供專業使用者使用，例如，在分子生物技術方面經過培訓的技術員和醫師。

QIAamp DSP Circulating NA Kit 適用於體外診斷用途。

純化後核酸 (Nucleic Acids, NA) 產量

使用血漿樣本的純化後核酸產量，可能具有很高的變異性。因此，使用者應該針對實驗室採用的特定目標及下游應用，最佳化血漿輸入量及洗脫體積。

如果將試劑組與 QIAGEN® 下游應用配合使用，請參閱相關使用手冊獲取說明。

下游應用分析

以 QIAamp DSP Circulating NA Kit 分離的核酸可用於不同的下游應用。為了評估效能，來自單一捐贈者血漿的核酸是使用三種不同收集管 (BD Vacutainer® K2EDTA Tube, Becton Dickinson and Company; PAXgene® Blood ccfDNA Tube, PreAnalytiX GmbH; 及 Streck® Cell-Free DNA Blood Collection Tube (BCT)®, Streck; 每組 n=24 捐贈者) 進行分離。1 ml 血漿輸入量的析出液使用定量 PCR (qPCR, 圖 1A)、微滴式數位 PCR (ddPCR, 圖 1B), 以及反轉錄 qPCR (RT-qPCR) (針對 RNA) (僅限 BD Vacutainer K2EDTA Tube 血漿, 圖 2) 進行測試。

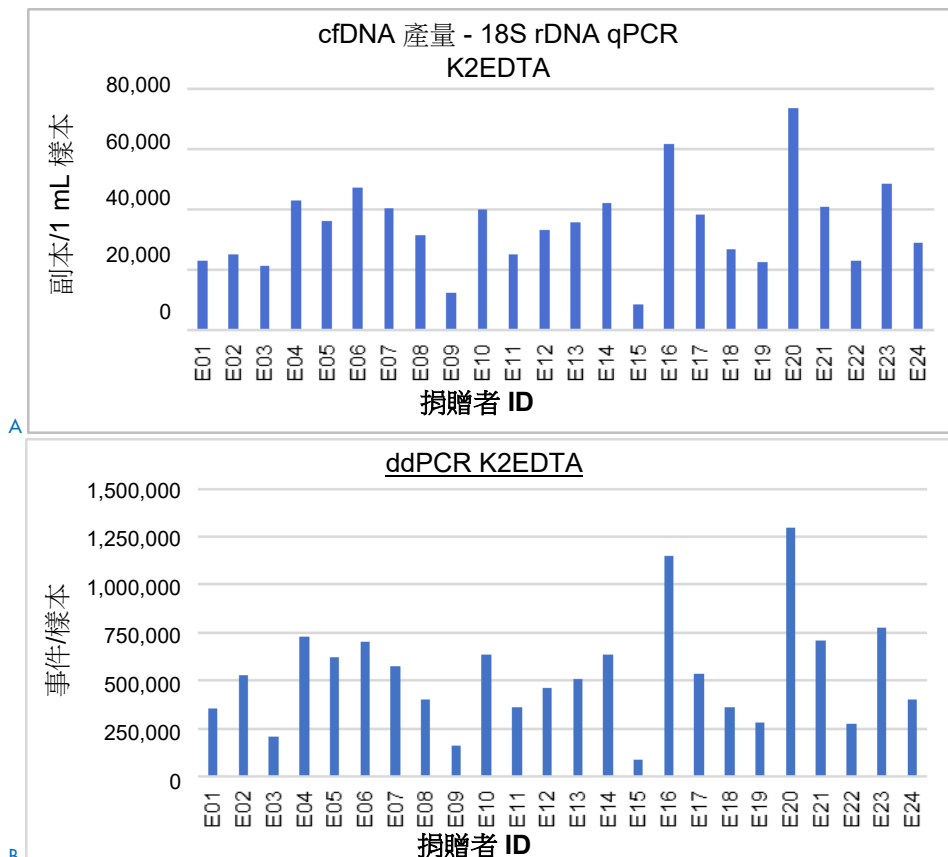


圖 1：單一捐贈者血漿 (1 ml 輸入量) 使用 qPCR 與 ddPCR (Bio-Rad®) 之比較

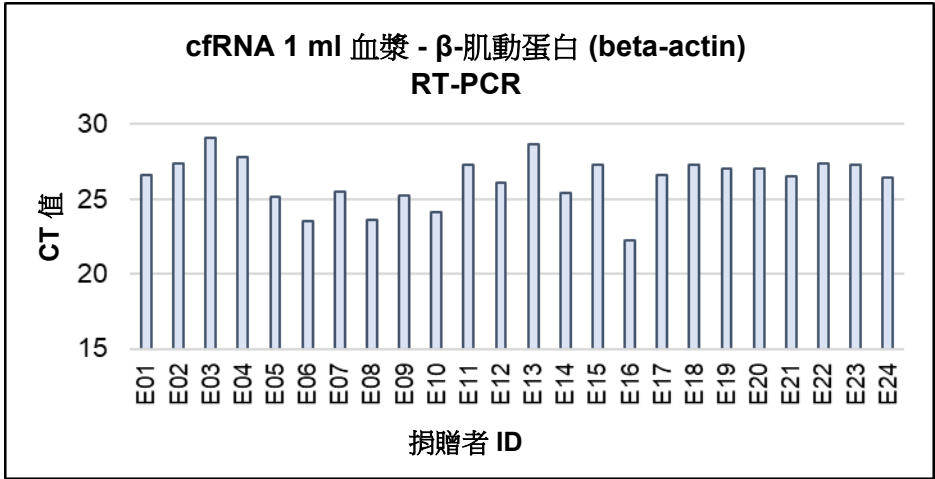


圖 2：使用針對人類 β-肌動蛋白 (beta-actin) 基因 (293 bp 片段長度) 的 RT-qPCR 檢測法，檢測單一捐贈者血漿 (1 ml 輸入量) 中的游離 RNA。

針對次世代定序 (Next Generation Sequencing, NGS) 分析，生成 5 ml 血漿輸入量的析出液 (BD Vacutainer K2EDTA Tube、PAXgene Blood ccfDNA Tube 及 Streck Cell-Free DNA BCT；每組 n=8 捐贈者)。5 ml 血漿的 DNA 總產量範圍介於 50 - 150 ng DNA (以 Qubit® HS dsDNA 檢測法進行檢測)。使用 GeneRead® QIAact Actionable Insights Tumor Panel 及 GeneReader® 系統，完成 NGS 分析。所有樣本都成功完成富集分析，並建立了資料庫。98% 以上生成的讀值皆對應至人類基因體，而關注區域中 >99.8% 位點的鹼基涵蓋 ≥500x。

對於兩種核酸 (DNA 及 RNA) 而言，下游技術的成功應用如下圖所示 (圖 3)。

	qPCR	ddPCR	RT-qPCR	NGS
K2EDTA	✓	✓	✓	✓
PAXgene	✓	✓	未測試	✓
Streck	✓	✓	未測試	✓

圖 3：以不同下游應用成功使用分離的核酸。

使用者應該針對實驗室採用的特定分子及後續程序，最佳化血漿輸入量及洗脫體積，或參考相關下游應用的特定效能。

析出液穩定性

析出液的穩定性取決於分離核酸的含量和類型、洗脫體積及儲存條件。我們建議使用者根據自身要求確定析出液穩定性。

使用從 BD Vacutainer K2EDTA Tube (Becton Dickinson and Company) 及穩定收集管 (PAXgene Blood ccfDNA Tube 及 Streck Cell-Free DNA BCT) 之人類血漿生成的析出液，測試 DNA 和析出液的析出液穩定性。析出液儲存於 -30°C 至 -15°C 及 -90°C 至 -65°C 。經過最多 12 個月的觀察，未出現退化。析出液在 $2 - 8^{\circ}\text{C}$ 及室溫 ($15 - 25^{\circ}\text{C}$) 可穩定保存最多 48 小時。所有條件均是使用 qPCR 人類 18S rDNA 基因定向進行評估。

使用從 BD Vacutainer K2EDTA Tube (Becton Dickinson and Company) 之人類血漿生成的析出液，測試 RNA 和析出液的析出液穩定性。析出液儲存於 -30°C 至 -15°C 及 -90°C 至 -65°C 。經過最多 6 個月的觀察，未出現退化。析出液在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 可穩定保存最多 48 小時。所有條件均是使用 RT-qPCR 人類 β -肌動蛋白基因定向進行評估。

如果將試劑組與 QIAGEN 下游應用配合使用，請參閱相關使用手冊獲取說明。

核酸分離的精確度

使用人類血漿評估了精確度，而所有條件均是使用 qPCR 人類 18S rDNA 基因定向進行評估。

實驗設置包括 12 次純化運行，每次重複 12 回 (共 144 次純化)。使用三批不同的 QIAamp DSP Circulating NA Kit，由三名不同的操作員在三個不同日期，於三台不同儀器進行純化運行。對於 QIAamp DSP Circulating NA Kit 的每個單一參數及整體變異性 (總計)，確認了標準差 (Standard Deviation, SD) 及變異係數 (Coefficient of Variation, CV) (表 1)。

表 1：精確度結果

參數	精確度		
	平均副本/ml	SD	CV (%)
每次運行之間	25,894	461	1.78
每位操作員之間		1392	5.38
每台儀器之間		228	0.88
不同日期之間		2096	8.09
不同批次之間		969	3.74
總計		3120	12.05

線性

關於儲存於 BD Vacutainer K2EDTA Tubes、PAXgene Blood ccfDNA Tubes 及 Streck Cell-Free DNA BCTs 的血液，已產生 1 – 5 ml 血漿輸入量的數據。針對所有 BCTs，觀察到 DNA 產量的線性增加 (請參見圖 4)；針對 BD Vacutainer K2EDTA Tubes，RNA 也是如此。

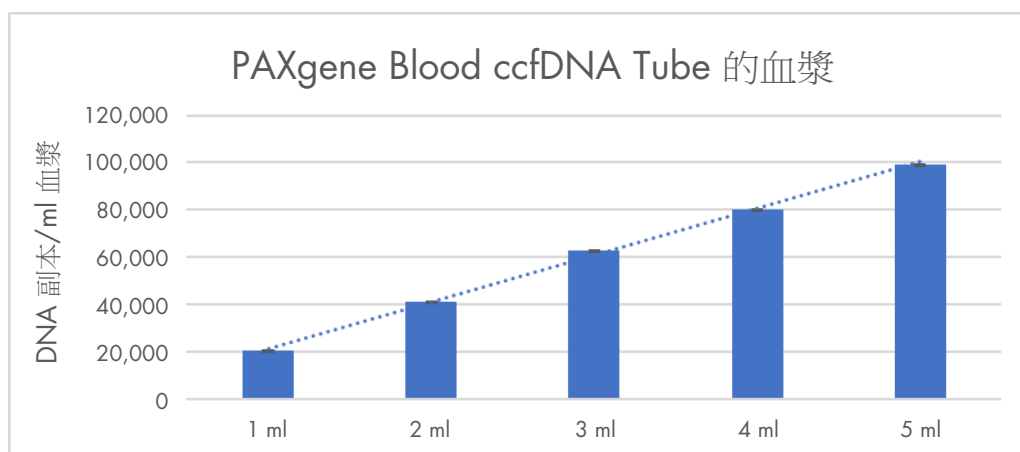


圖 4：不同血漿輸入量之 DNA 總產量的線性增加情況 (DNA 副本/ml 血漿輸入量)。PAXgene Blood ccfDNA Tube 血漿的數據如圖所示，與 BD Vacutainer K2EDTA Tube (DNA/RNA) 及 Streck Cell-Free DNA BCT 血漿的結果相當。

操作程序等效性 (Breeze/傳統操作程序)

藉由顯示平均 Ct 值 (RNA) 或平均副本/ml (DNA) 差異對應的 95% 信賴界限位於 $\pm 2 \times \text{STD}$ 內 (STD 為傳統操作程序的觀察精確度 (參考條件))，確認了 Breeze 操作程序與傳統操作程序之間的效能等效性。三名操作員使用了三個試劑組批次進行實驗。

Breeze 操作程序產生的 Ct 值總精確度 (STD) 低於傳統操作程序總精確度 (STD) 的雙側 95% 預測區間上限，其中預測區間是在研究內使用傳統操作程序中的數據 ($n = 143$)，並使用研究中 Breeze 操作程序的數據點數 ($n = 144$) 進行計算。

干擾物質

可能干擾物質可能來自不同來源，例如天然代謝物、患者治療期間使用的物質或患者攝取的物質。對於 QIAamp DSP Circulating NA Kit，血紅素、三酸甘油酯、EDTA、咖啡因、白蛋白、結合型膽紅素和非結合型膽紅素是作為內生性成分進行測試。將 qPCR 作為下游應用時並未發現干擾。此外，在樣本處理及核酸萃取過程中，QIAamp DSP Circulating NA Kit 的成分（蛋白酶 K、Buffer ACL、Buffer ACB、Buffer ACW1、Buffer ACW2 和乙醇）並未產生干擾。

由於潛在干擾物質的複雜度及特定下游應用的不同靈敏度，我們建議使用者針對自己的工作流程評估干擾物質影響，然後驗證方法以控制在特定下游應用中的干擾。

有關具體 QIAGEN 下游應用的干擾物質的更多資訊，請參閱相關的試劑組使用使用手冊。

交叉污染

如需評估交叉污染的程度，將 105 副本的 HBV 病毒外加至 5 或 2 ml 人類血漿（陽性樣品）中，並在無病毒樣本（陰性樣品）附近進行分離（以棋盤設置，與僅含有陰性樣本的萃取運行交替進行）（評估萃取內及萃取間運行的交叉污染）。該研究的目的是模擬含有高濃度核酸目標分子的樣本，可能在萃取程序過程中與其他樣本產生交叉污染。核酸純化採用同一個批次的試劑進行。使用 artus® HBV RG CE PCR Kit 評估是否出現交叉污染。結果表明整個系統內未出現交叉污染。

符號

	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
	製造商
Rn	R 是表示使用說明（效能特性）的修訂版而 n 是修訂版號

文件修訂歷程記錄

修訂	描述
R1, 2022 年 6 月	QIAamp DSP Circulating Kit V2 更新符合 IVDR 規定 在預期用途新增「手動」分離。效能資料與 Kit 第 1 版相同。

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 上下載，或者從 QIAGEN 技術服務部或您當地經銷商處取得。

商標：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)。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-3049-D01-001 © 2022 QIAGEN，保留所有權利。

