



2022 年 6 月

QIAasymphony® DSP DNA Kit 使用說明 (效能特性)

第 2 版



供體外診斷使用

適用於 QIAasymphony DSP DNA Mini Kit 及 QIAasymphony DSP DNA Midi Kit



937236, 937255



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 德國

R1

效能特性電子檔可在產品頁面的資源索引標籤下找到 www.qiagen.com。

簡介

QIAasymphony DSP DNA Kit 僅限與 QIAasymphony SP 共同使用。

QIAasymphony DSP DNA Mini Kit 提供從人類全血、膚色血球層、組織及福馬林固定石蠟包埋 (FFPE) 組織樣本中自動純化總 DNA，以及從人類全血中純化病毒 DNA 所需的反應試劑。QIAasymphony DSP DNA Midi Kit 提供從人類全血及膚色血球層中自動純化總 DNA 所需的反應試劑。然而，搭配不同血液收集管或組織時的效能特性尚未確立，仍需由使用者自行確效。

磁性粒子技術幫助純化去除了蛋白質、核酸酶及其他不純物質的高品質核酸。純化後的核酸可直接使用於下游應用中，例如擴增反應 (PCR)。QIAasymphony SP 可執行純化流程的所有步驟。一次可處理最多 96 個樣本、最多 24 批次。

下列為使用於不同應用時的效能資料。

效能特性

備註：效能特性受多種因素以及特定下游應用高度影響。皆為 QIASymphony DSP DNA Mini 及 Midi Kit 搭配範例下游應用使用時建立。然而，從生物性檢體分離核酸的方法經常是多數下游應用的前端。效能參數例如交叉污染或執行精確度等，須作為下游應用發展時的一部分因應各個工作流程被確立。因此，使用者應確效整體工作流程，並建立適當效能參數。

不同下游應用的基礎效能及相容性

DNA 血液與膚色血球層

DNA 產量

QIASymphony DSP DNA Mini Kit 的基礎效能已透過使用不同血液收集管及抗凝血劑採集新鮮或冷凍人類全血進行評估。採集的全血來自 3 個健康捐贈者（白血球 [WBC] 數量 4.0 至 11.0×10^6 細胞/ml）分別在 3 支不同種類血液收集管中：EDTA = 10 ml BD™ Vacutainer® 16 x 100 mm (K2-EDTA)；檸檬酸鹽 = 2.7 ml Sarstedt® S-Monovette® 9NC Tube 13 x 75 mm (citrate)；肝素 = 7.5 ml Sarstedt S-Monovette 15 x 92 mm (Li-肝素)。血液檢體為新鮮（存放於 $-2-8^{\circ}\text{C}$ ）或冷凍（存放於 -20°C ）狀態。使用 QIASymphony DSP DNA Mini Kit、blood 200 DSP 操作程序及溶析體積 $200 \mu\text{l}$ 由 $200 \mu\text{l}$ 樣本中純化基因體 DNA，各捐贈者及試管種類皆重複執行 4 次。DNA 產量及純度經光譜分析鑑定（圖 1）。

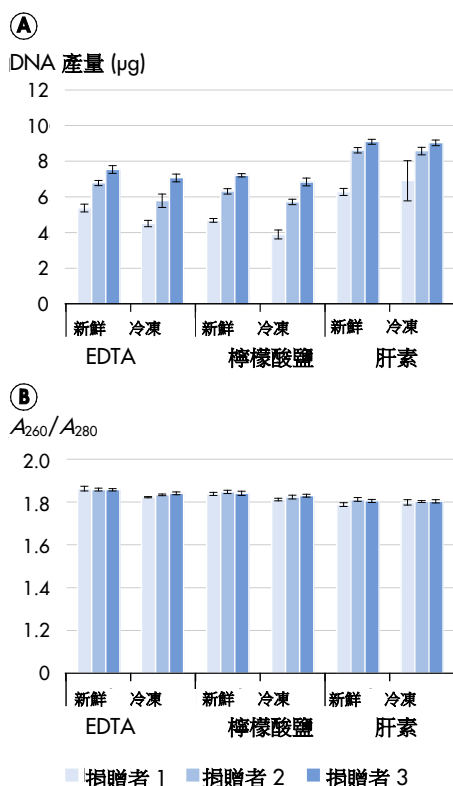


圖 1：使用不同種類血液收集管及抗凝血劑採集新鮮或冷凍人類全血所純化 DNA 產量及純度。A DNA 產量，條狀圖顯示實際 DNA 產量及標準差。B DNA 純度，條狀圖顯示 DNA 純度及標準差。

DNA 完整度

利用長範圍 PCR 檢測純化長範圍 PCR 產物 (5 kb) (圖 2)。

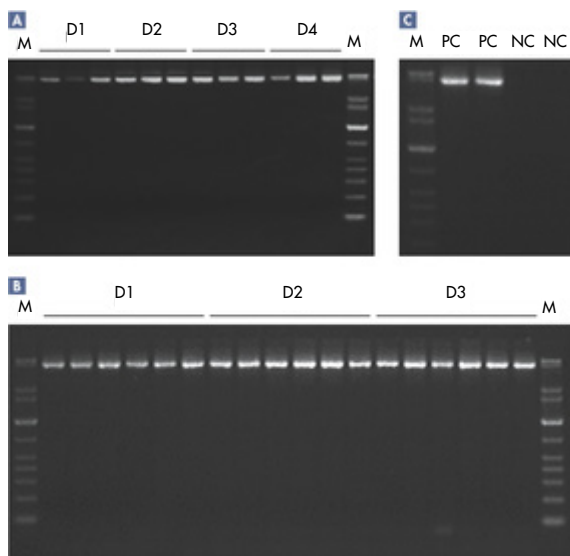


圖 2：DNA 完整度經長範圍 PCR 測試。 M, QIAGEN GelPilot 1 kb Plus Ladder. **A** 以 BD K2E 血液收集管從 4 位健康捐贈者採集全血。以 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit、blood 200 DSP 操作程序及溶析體積 200 μ l 由 200 μ l 分裝中純化使用於長範圍 PCR 的基因體 DNA，並重複進行 3 次。D1 = 捐贈者 1；D2 = 捐贈者 2；D3 = 捐贈者 3；D4 = 捐贈者 4。 **B** 以 BD K2E 血液收集管從 3 位健康捐贈者採集全血，並製備膚色血球層。以 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit、buffy coat 200 DSP 操作程序及溶析體積 200 μ l 由 200 μ l 分裝中純化基因體 DNA，並重複進行 6 次。D1 = 捐贈者 1；D2 = 捐贈者 2；D3 = 捐贈者 3。 **C** 對照組：PC = 陽性對照組；NC = 陰性對照組。

DNA 產量與 WBC 數量之關聯性

QIAsymphony DSP DNA 血與膚色血球層的應用效能透過 6 種不同 WBC 數量的血與膚色血球層樣本進行評估。全血的 WBC 數量範圍為 4×10^6 個細胞/ml 至 11.6×10^6 個細胞/ml，膚色血球層細胞數量範圍為 2.2×10^7 細胞/ml 至 5.6×10^7 細胞/ml。DNA 產量經光譜分析鑑定並依據各自 WBC 數量作圖 (圖 3)。

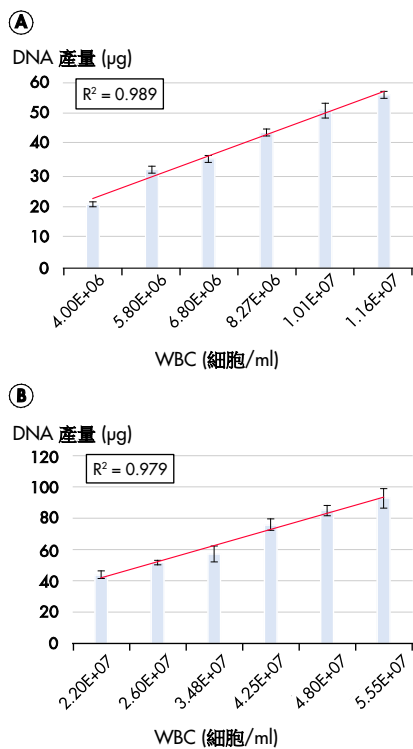


圖 3：DNA 產量與 WBC 數量之關聯性。 A 使用 QIASymphony DSP DNA Midi Kit · blood 1000 DSP 操作程序及溶析體積 500 µl 由 1 ml 人類全血中純化基因體 DNA。條狀圖顯示實際 DNA 產量及標準差。B 使用 QIASymphony DSP DNA Midi Kit · buffy coat 400 DSP 操作程序及溶析體積 400 µl 由 400 µl 膚色血球層中純化基因體 DNA。條狀圖顯示實際 DNA 產量及標準差。

病毒血液

透過在 CMV 陰性人類全血當中稀釋事先量化的 CMV WHO 標準品來進行命中率研究。偵測率 100% 出現在病毒量 90 IU CMV/ml 的樣本中 (表 1)。

表 1：QIASymphony DSP 病毒血液應用靈敏度

CMV (IU/ml)	Replicates (重複數)	命中率	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

以 BD K2E 血液收集管採集 1 位 CMV 陰性健康捐贈者的全血並外加不同定量量的 CMV WHO 標準品。利用 QIASymphony DSP DNA Mini Kit · Virus Blood200 DSP 操作程序及溶析體積 60 µl 純化病毒 DNA。洗脫溶液以 CMV real-time PCR 檢測分析。

組織及 FFPE 組織

DNA 產量

QIAsymphony DSP DNA FFPE 組織的應用效能透過使用 1 - 4、10 μm FFPE 切片或新鮮人類脾臟樣本重複執行 6 次進行評估。合併使用 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit 與組織低含量 DSP 操作程序進行 DNA 萃取。以二甲苯/酒精方法事先進行脫蠟及溶解。DNA 被析出在 50 μl elution Buffer (洗脫緩衝液)，所產出的 DNA 產量經光譜分析鑑定 (圖 4)。

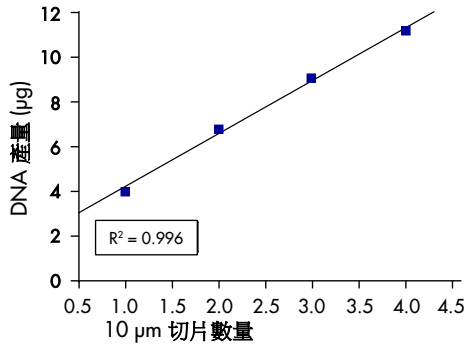


圖 4：DNA 產量與 FFPE 組織切片數量之關聯性。重複執行六次的 1 - 4、10 μm 的 FFPE 人類脾臟組織切片透過二甲苯/酒精方法事先進行脫蠟。在 QIAsymphony SP 同時使用 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit、組織低含量 DSP 操作程序與 50 μl 溶析體積進行 DNA 萃取。

利用 real-time PCR 分析生物標記的突變程度

利用人類大腸 FFPE 組織切片的 DNA 及人類肺臟組織樣本所萃取的 DNA 進行生物標記突變程度的分析。

使用 3 x 10 μm 的人類大腸切片進行 FFPE 組織樣本 DNA 萃取的樣本製備。透過 Deparaffinization Solution 進行事先處理搭配組織低含量 DSP 操作程序與 100 μl 溶析體積進行 DNA 萃取。依據檢測使用手冊以 KRAS 偵測 real-time PCR 檢測進行 KRAS 生物標記的突變分析。對照檢測的 C_T 值在定義範圍內，突變偵測分析顯示密碼子 12 中發生了一個胺基酸替換，其 ΔC_T 值為 4.17，低於偵測 12SER 突變的定義閾值 8 (表 2)。

表 2：FFPE 組織 KRAS 組織生物標記突變分析結果

樣本	反應	目標 C _T	內部對照劑 C _T	ΔC _T *
無模板對照組	對照組	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	-
Standard (標準品)	對照組	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 組織 (人類大腸)	對照組	24.94	31.98	-
	12ALA	未檢出	32.42	-
	12ASP	未檢出	32.73	-
	12ARG	未檢出	33.05	-
	12CYS	未檢出	32.74	-
	12SER	29.11	32.34	4.17
	12VAL	未檢出	32.81	-
	13ASP	未檢出	33.20	-

* $\Delta C_T = M C_T - C C_T$ ，M 代表發生突變，C 代表對照組，n.d. 代表未檢出。

25 mg 的人類肺臟組織搭配組織高含量 DSP 操作程序及 200 μ l 溶析體積用於冷凍組織樣本 DNA 萃取的樣本製備。利用 EGFR real-time PCR 檢測進行 EGFR 生物標記的突變分析。依據檢測 使用手冊內容所述進行對照組及突變偵測的分析。結果顯示 EGFR 基因發生缺失，其 ΔC_T 值為 2.47，低於偵測到突變的定義閾值 12 (表 3)。

表 3：冷凍組織 EGFR 生物標記突變分析結果

樣本	反應	目標 C _T	內部對照劑 C _T	ΔC _T *
無模板對照組	對照組	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	-
	Ins	0.00	31.84	-
Standard (標準品)	對照組	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
	Ins	28.00	31.64	-0.78
組織 (人類肺臟)	對照組	25.76	31.23	-
	T790M	未檢出	31.99	-
	缺失	28.23	30.99	2.47
	L858R	未檢出	31.33	-
	L861Q	未檢出	31.98	-
	G719X	未檢出	32.06	-
	S768I	未檢出	31.88	-
	Ins	未檢出	31.62	-

* $\Delta C_T = M C_T - C C_T$, M 代表發生突變, C 代表對照組, n.d. 代表未檢出。

重複性和再現性

DNA 血液

使用 blood 200 DSP 操作程序及 200 μ l 溶析體積進行 DNA 萃取。由同一操作員在 3 個不同日期執行 3 次獨立運行 (每次 96 個樣本) 以評估重複性, 每次運行由 4 個批次 24 個樣本組成 (表 4 及表 5)。

由 3 位不同操作者在 3 個不同日期、不同 QIAAsymphony SP 儀器上執行 3 次獨立運行 (每次 96 個樣本) 以評估再現性每次運行由 4 個批次 24 個樣本組成 (表 6 及表 7)。

表 4：重複性評估結果

運行	批次	n	平均 DNA 產量 (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
總計	-	288	4.96	-	-

N = 重複次數；SD = 標準差；CV = 變異係數。

表 5：重複性評估的精確資料

	SD	CV
同一次運行中的批次與批次之間比較	0.25	4.95
總重複準確度	0.26	5.18

SD = 標準差；CV = 變異係數。

表 6：再現性評估結果

運行	批次	n	平均 DNA 產量 (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
總計	-	288	5.38	-	-

N = 重複次數；SD = 標準差；CV = 變異係數。

表 7：再現性評估的精確資料

	SD	CV
同一次運行中的批次與批次之間比較	0.25	4.73
總重複準確度	0.38	7.03

SD = 標準差；CV = 變異係數。

比較效能

DNA 血液

與 EZ1® DSP DNA 血液系統和 QIAamp® DNA Blood Mini Kit 的手動製備程序進行比較後，分析 QIAAsymphony DSP DNA blood system 的效能。

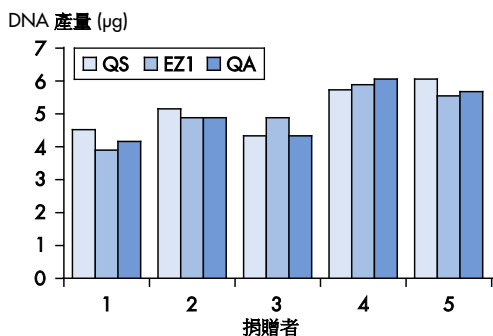


圖 5：不同血液 DNA 純化系統間的 DNA 產量比較。全血以 BD K2E 血液收集管從 5 位健康捐贈者採集。所有的方法皆使用 200 µl 樣本輸入及 200 µl 溶析體積。QS, QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit 及 blood 200 DSP 操作程序; EZ1, EZ1 Advanced XL 搭配 EZ1 DSP DNA Blood Kit; QA, QIAamp DNA Blood Mini Kit。條狀圖顯示各樣本的實際 DNA 產量。

組織及 FFPE 組織

比較 QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit 與手動 QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit、QIAamp DSP DNA Mini Kit 的效能，並以 FFPE 組織、新鮮及冷凍組織作為樣本材料。同時進行手動和自動樣本製備，以及 DNA 產量的定量。使用 QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit、QIAamp DSP DNA Mini Kit (組織) 及 QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (FFPE 組織) 從新鮮/冷凍及 FFPE 組織中萃取出來的 DNA 產量如圖 6 所示。

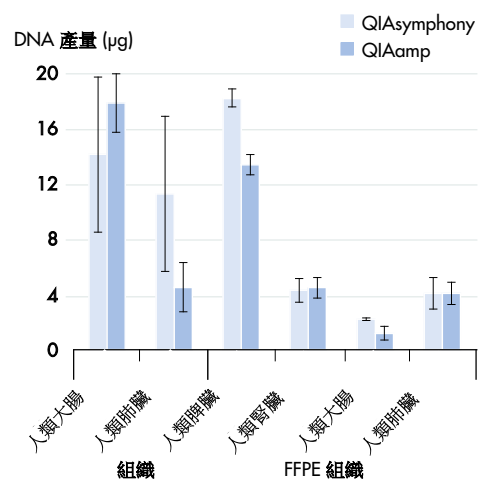


圖 6：從組織及 FFPE 組織樣本萃取 DNA。樣本為新鮮/冷凍組織的狀況下，將人類肺臟及大腸樣本剪成 6 x 25 mg 的片段。各種組織分別使用三個片段進行樣本製備，並使用 QIAAsymphony SP 搭配組織高含量 DSP 操作程序。使用 QIAamp DSP DNA Mini Kit 從剩餘樣本萃取 DNA。200 µl DNA 被析出，所產出的 DNA 產量經光譜分析鑑定。針對從 FFPE 組織萃取 DNA，準備 12 重複、來自人類不同器官的 3 x 10 µm FFPE 組織切片。六個樣本被用於 QIAAsymphony SP 搭配 Deparaffinization Solution 事先處理以及組織低含量 DSP 操作程序的樣本製備當中。使用 QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit 從剩餘樣本萃取 DNA。50 µl DNA 被析出，所產出的 DNA 產量經光譜分析鑑定。條狀圖顯示實際 DNA 產量及標準差。

樣本輸入/析出輸出範圍

DNA 血液

使用捐贈者 WBC 數量範圍 5.0 至 8.0×10^6 個細胞/ml 的血液樣本比較了 DNA 血液應用針對不同樣本輸入及析出輸出的範圍。

全血以 BD K2E 血液收集管從 8 位健康捐贈者採集。使用 QIASymphony DSP DNA Mini/Midi Kit 分別搭配 DNA blood 200 DSP 操作程序及 $200 \mu\text{l}$ 溶析體積、DNA blood 400 DSP 操作程序及 $400 \mu\text{l}$ 溶析體積、DNA blood 1000 DSP 操作程序及 $500 \mu\text{l}$ 溶析體積，重複進行 6 次 DNA 純化（圖 7）。

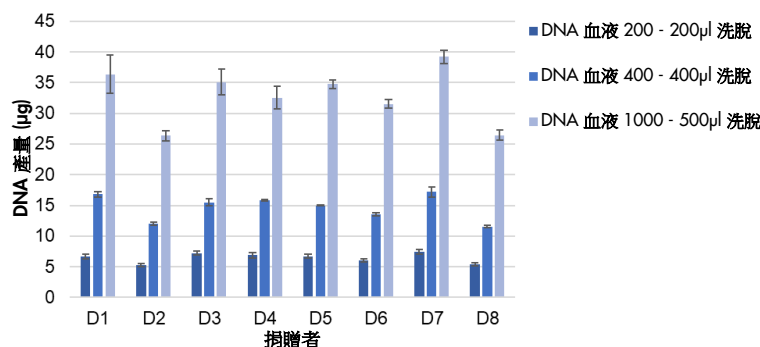


圖 7：DNA 純化系統中不同樣本輸入及溶析體積之比較。全血以 BD K2E 血液收集管從 8 位健康捐贈者採集。使用 DNA blood 200 DSP 操作程序及 $200 \mu\text{l}$ 溶析體積、DNA blood 400 DSP 操作程序及 $400 \mu\text{l}$ 溶析體積、DNA blood 1000 DSP 操作程序及 $500 \mu\text{l}$ 溶析體積進行 DNA 萃取。DNA 產量經光譜分析鑑定。條狀圖顯示各個捐贈者樣本的實際 DNA 產量（平均及標準差）。

病毒血液

以 BD K2E 血液收集管從 3 為健康捐贈者採集 WBC 數量範圍 4.0 至 11.0×10^6 個細胞/ml 的全血樣本，並外加 CMV 標準品（滴定量 $3.7 \log$ 副本/ml）。利用 QIASymphony DSP DNA Mini Kit、Virus Blood200 DSP 操作程序及 4 種不同溶析體積進行 7 重複純化病毒 DNA（圖 8）。

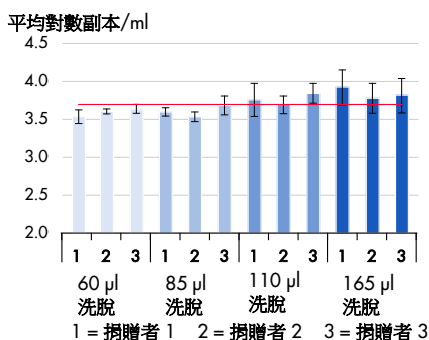


圖 8：不同溶析體積所得到的病毒 DNA 定量比較。以 CMV real time PCR 檢測分析各個捐贈者及溶析體積（60、85、110 及 $165 \mu\text{l}$ ）所得到的析出液。紅線顯示目標滴定量，條狀圖顯示每 ml 的平均對數副本及標準差。

析出液穩定性

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 QIAsymphony DSP Mini 及 Midi 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。

DNA 血液與膚色血球層

使用以 DNA blood 200 DSP 操作程序及 200 µl 溶析體積、DNA blood 1000 DSP 操作程序及 500 µl 溶析體積執行的 QS 運行析出液測試 DNA 血液應用的析出液穩定性。析出液在室溫、2-8°C、-20°C 及 -80°C 的條件下，存放在 2 ml Sarstedt 試管中，DNA 產量及純度經光譜分析鑑定。透過凝膠電泳及長範圍 PCR 檢測分析 DNA 完整性（圖 9）。

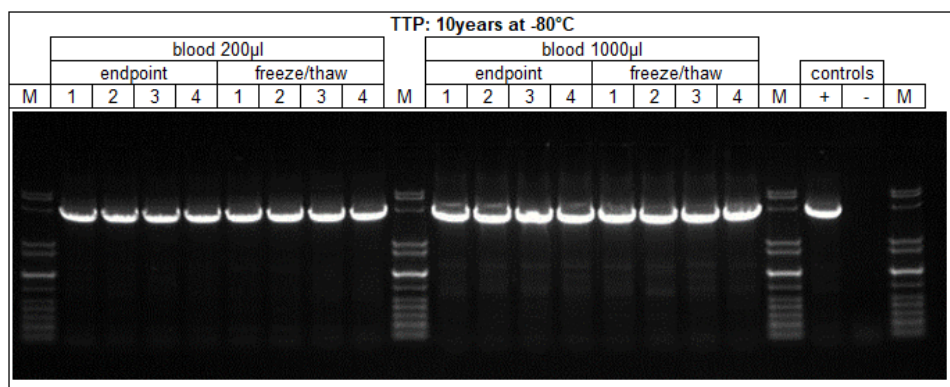


圖 9：DNA 血液的析出液穩定性。使用 DNA Blood 200 µl 及 1000 µl 操作程序純化 DNA。析出液在 -80°C 的條件下，存放在 2 ml Sarstedt 試管中。分析共 4 重複。DNA 完整性經長範圍 PCR 測試。圖示顯示存放 10 年後的結果。M, QIAGEN GelPilot 1 kb Plus Ladder.

使用 BC 400 µl 操作程序和 200 µl 溶析體積執行的 QS 運行析出液測試了膚色血球層應用的析出液穩定性。析出液在室溫、2-8°C、-20°C 及 -80°C 的條件下儲存於 2 ml Sarstedt 試管及洗脫微試管架，並且後續進行 3 個循環的冷凍/解凍測試（圖 10）。DNA 產量及純度經光譜分析鑑定。透過凝膠電泳及長範圍 PCR 檢測（50 µl 反應）分析 DNA 完整性。

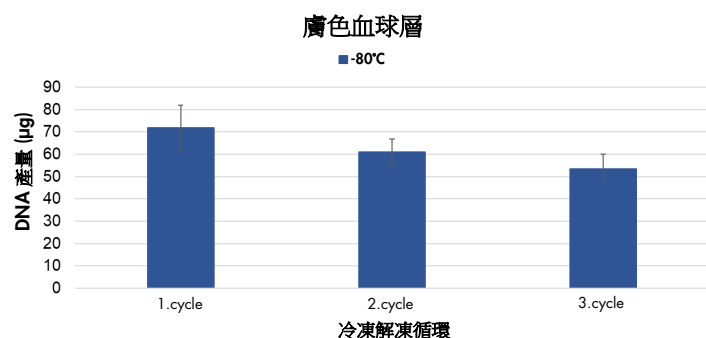


圖 10：膚色血球層析出液冷凍解凍循環。使用 DNA BC 400 µl 操作程序純化 DNA。膚色血球層來自 EDTA 血液。析出液存放在 2 ml Sarstedt 試管中。在 3 次冷凍解凍循環中使用相同的析出液，並在測試時間點鑑定 DNA 產量。DNA 產量經光譜分析鑑定。條狀圖顯示實際 DNA 產量（平均及標準差）。

病毒血液

使用 Virus Blood 200 操作程序和 60 μ l 溶析體積執行的 QS 運行析出液測試了 virus blood 應用的析出液穩定性。使用 K₂ EDTA 血液外加商業化 CMV 標準品（滴定量 2.7 對數副本/ml）作為樣本材料。析出液在 2-8°C、-20°C 及 -80°C 的條件下儲存於 2 ml Sarstedt 試管，並以 CMV real time 檢測分析析出液（圖 11）。以下顯示多個測試時間點的結果。

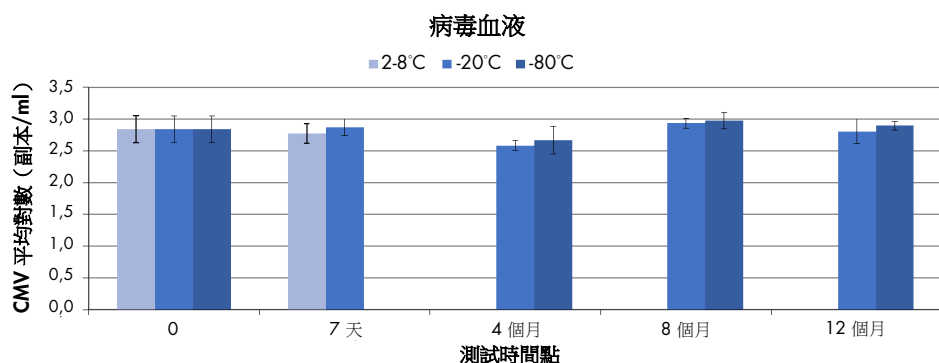


圖 11：病毒血液應用的析出液穩定性。以 Virus Blood 200 操作程序純化外加商業化 CMV 標準品的 EDTA 血液樣本。析出液在不同溫度條件下保存在洗脫微試管架及 2 ml Sarstedt 試管。每個測試時間點皆重複分析 4 次。條狀圖顯示實際 CMV 滴定量（平均對數值及標準差）。

組織

使用 Tissue HC 200 μ l 操作程序和 200 μ l 溶析體積測試組織應用的析出液穩定性。使用新鮮小牛肝臟作為樣本材料。析出液在室溫、2-8°C、-20°C 及 -80°C 的條件下，存放在 2 ml Sarstedt 試管及洗脫微試管架中，DNA 產量及純度經光譜分析鑑定（圖 12）。以凝膠電泳分析 DNA 完整度。

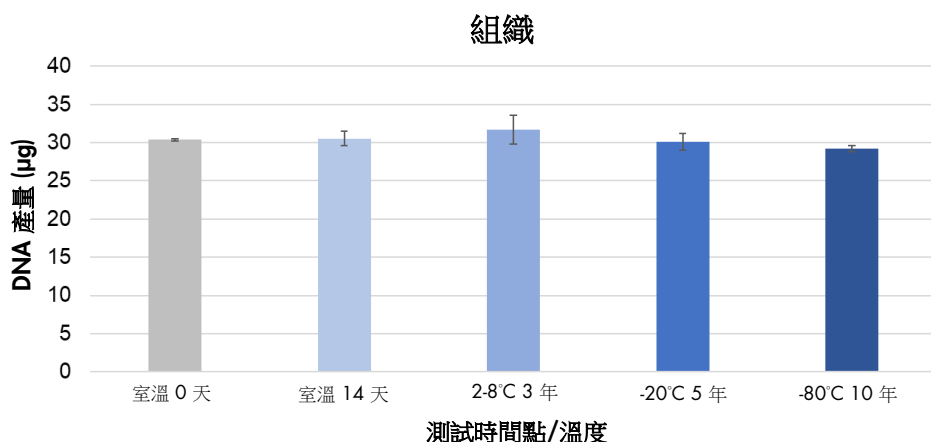
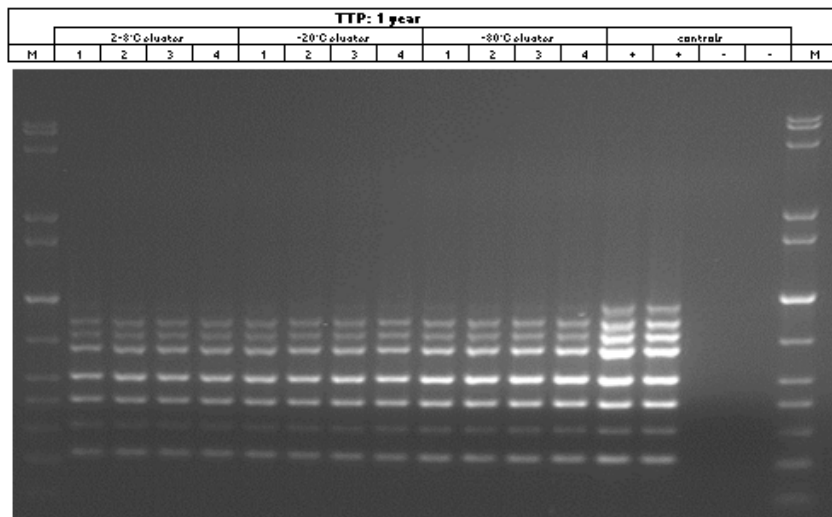


圖 12：組織析出液穩定性。使用 DNA Tissue HC 操作程序及 200 μ l 溶析體積純化 DNA。使用新鮮小牛肝臟作為樣本材料。析出液在不同溫度條件下保存在洗脫微試管架及 2 ml Sarstedt 試管。每個測試時間點皆重複分析 4 次。DNA 產量經光譜分析鑑定。條狀圖顯示實際 DNA 產量（平均及標準差）。

FFPE 組織

使用 Tissue LC 200 μ l 操作程序和 100 μ l 溶析體積測試 FFPE 組織應用的析出液穩定性。使用商業化人類 FFPE 組織作為樣本材料。以內部人類 8-plex PCR 檢測分析在室溫、2-8°C、-20°C 及 -80°C 條件下儲存於 2 ml Sarstedt 試管及洗脫微試管架的析出液（圖 13）。以下顯示兩個測試時間點的結果。

A :



B :

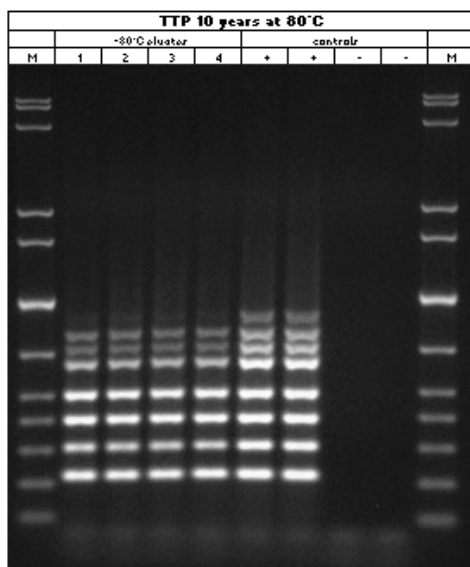


圖 13 : FFPE 組織析出液穩定性。 使用 DNA Tissue LC 操作程序純化 DNA。使用商業化 FFPE 組織作為樣本材料。析出液在不同溫度條件下保存在洗脫微試管架及 2 ml Sarstedt 試管。每個測試時間點皆重複分析 4 次。以內部人類 8-plex PCR 檢測分析析出液。

干擾物質

透過添加以下物質測試了可能存在於全血中的抑制物質對 DNA 血液應用、病毒血液應用和組織應用效能的影響：

表 8：針對不同應用測試潛在干擾物質

干擾物質	濃度	血液	病毒血液	組織
膽紅素	200 mg/L	✓	✓	✓
血紅素	200 g/L	✓	✓	
三酸甘油酯	30 g/L	✓	✓	✓
蛋白質	120 g/L	✓	✓	✓

備註：「✓」標示針對相應的潛在干擾物質測試了哪些樣本材料。）

針對血紅素 (200 g/l) 和蛋白質 (120 g/l)，測定血液樣本中的既有標準，並額外添加血紅素或蛋白質以分別達到指定濃度 200 或 120 g/l。針對膽紅素 (200 mg/l) 和三酸甘油酯 (30 g/l)，將各個物質總量添加到樣本中以達到指定濃度。

針對組織，將各個物質總量直接添加到溶胞物中，未對所用組織樣本的膽紅素、三酸甘油酯或蛋白質濃度進行測定。

任何潛在的干擾物質（例如藥物）、相應濃度對於下游應用具特異性和患者先前可能進行的醫學治療，應在使用 QIASymphony DSP DNA Mini 及 Midi Kit 確效此類下游應用時進行調查。

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或濃度），因此相關物質和各自濃度的鑑定和測試也需要作為任何 QIASymphony DSP Mini 及 Midi Kit 相關下游應用開發時的一部分被建立。

備註：請注意，在 QIASymphony DSP DNA Midi Kit 的開發過程中，沒有觀察到肝素對效能有負面影響的現象。然而，ISO 20186-2:2019 (E) 指出，血液收集管中的肝素可能會影響分離核酸的純度，且可能污染析出液並對某些下游應用產生抑制作用。因此，使用者有責任確效肝素是否對其工作流程產生負面影響。

DNA 血液與膚色血球層

針對 DNA 血液應用使用 DSP DNA 1000 操作程序進行測試，該操作程序涵蓋了最大樣本輸入量，並使用 200 和 500 µl 溶析體積。

使用光譜分析鑑定析出液的 DNA 產量及純度。以 real-time PCR 及終點 PCR 檢測測試 PCR 相容性。

表 9 中所列的物質皆不產生干擾；然而高三酸甘油酯濃度 (>30 g/l) 的血液樣本可能會導致 gDNA 產量降低。

病毒血液

針對病毒血液應用，以 DSP Virus Blood 200 操作程序及 60 µl 溶析體積進行測試。在 CMV 陰性血液樣本中外加 500 副本/ml（低濃度）及 1×10 E+04 副本/ml（高濃度，圖 14）商業化 CMV 標準品。

洗脫溶液以 CMV real-time PCR 檢測分析。

表 9 中所列的物質皆不產生干擾；然而高三酸甘油酯濃度 (>30 g/l) 的血液樣本可能會導致病毒 DNA 純度降低。

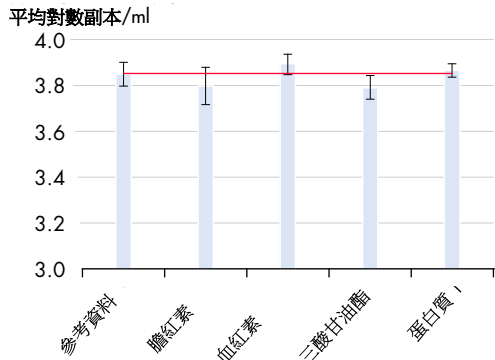


圖 14：抑制性物質測試。以 BD K2E 血液收集管從 1 位健康捐贈者採集全血樣本，並外加 CMV 標準品（滴定量 4.0 對數副本/ml）。透過在五個樣本中添加潛在抑制劑進行測試，使用 QIAasymphony DSP DNA Mini Kit 和 virus blood 200 DSP 操作程序及 165 µl 溶析體積從每個樣本 4 重複純化病毒 DNA。洗脫溶液以 CMV real-time PCR 檢測分析。紅線標示未外加任何抑制物質的參考樣本的測定滴度，條狀圖顯示每毫升的平均對數副本數及標準差。

組織

針對 DNA 組織（新鮮及冷凍）以 DSP DNA HC 操作程序及 200 µl 溶析體積進行測試。

使用光譜分析鑑定析出液的 DNA 產量及純度。以 real-time PCR 檢測測試 PCR 相容性。

表 9 中所列的物質皆未被鑑定會對樣本製備產生負面影響。

FFPE 組織

針對 FFPE 組織（新鮮及冷凍）以 DSP DNA LC 操作程序及 50 µl 溶析體積進行測試。

物質（參見表 9）被直接添加至溶胞物中。

表 9：針對不同應用測試潛在干擾物質

干擾物質	溶胞物中的濃度
二甲苯	最多 11%
乙醇	最多 11%
脫蠟溶液	最多 11%
石蠟	0.1 µM 切片

使用光譜分析鑑定析出液的 DNA 產量及純度。以 real-time PCR 及內部人類 8-plex PCR 檢測測試 PCR 相容性。

表 9 中所列的物質皆未被鑑定會對樣本製備產生負面影響。

交叉污染

DNA 血液

透過在 QIASymphony SP 儀器上替換棋盤批次（陽性和陰性樣本交替）及中斷完全陰性批次，執行四次 96 樣本運行來分析 QIASymphony DNA 血液應用的交叉污染風險。以男性血液（WBC 計數 $\geq 1.0 \times 10^7$ 細胞/ml，女性血液 WBC 計數在 4.0×10^6 和 9×10^6 細胞/ml 之間）作為模型系統。以涵蓋最大樣本體積的 blood 1000 μ l 操作程序進行樣本製備。透過後續使用 Y 染色體的 real-time PCR 析出液來評估萃取運行期間陰性女性樣本的潛在污染。

未偵測到樣本之間、每批次之間或每次運行之間的交叉污染。

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 IVDR新增了干擾物質、交叉污染、析出液穩定性和下游應用相容性部分

欲了解最新的許可資訊和產品特定的免責聲明，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®, QIASymphony®, QIAamp®, EZ1®, UltraRun® (QIAGEN Group); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); Sarstedt®, S-Monovette® (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-D01-001 © 2022 QIAGEN，保留所有權利。

