

QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit 사용 설명서(성능 특징)

버전 3



체외 진단용

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit와 함께 사용



61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 독일

R1

성능 특징은 온라인으로 제공되며 www.qiagen.com에 있는 제품 페이지의 리소스 탭에서 확인할 수 있습니다.

일반 개론

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit는 실리카 막 기술(QIAamp 기술)을 사용하여 생물학적 시료에서 유전체 DNA를 분리 및 정제합니다.

여러 혈액 검체의 동시 처리를 위해 설계된 QIAamp DSP DNA Blood Mini 절차는 즉시 사용 가능한 정제된 DNA를 산출합니다. 해당 절차는 구연산염 또는 EDTA로 처리된 신선하거나 냉동된 전혈 및 혈액과 함께 사용하기에 적합합니다.

이 간단한 QIAamp DSP 스피ن 및 진공 절차는 여러 검체의 동시 처리에 적합합니다. 일부 QIAamp 스피ن 절차는 표준화 및 사용 편의성을 높이기 위해 QIAcube® Connect MDx에서 완전 자동화할 수 있습니다. QIAcube Connect MDx는 핵산의 자동 분리 및 정제를 수행합니다. 단일 실행당 최대 12개의 검체를 처리할 수 있습니다.

성능 특징

참고: 성능 특징은 다양한 요인에 크게 의존하며 특정 다운스트림 공정과 관련이 있습니다. QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit에 대한 성능 특징이 모범 다운스트림 공정과 함께 확인되었습니다. 그러나 생물학적 시료에서 핵산을 분리하는 방법은 여러 다운스트림 공정을 위한 프런트 엔드로 사용되며, 교차 오염 또는 실행 정밀도와 같은 성능 매개변수를 다운스트림 공정 개발의 일부와 같은 작업 흐름에 대해 설정해야 합니다. 따라서 적절한 성능 매개변수를 설정하기 위해 전체 작업 흐름을 검증하는 것은 사용자의 책임입니다.

다양한 다운스트림 공정에 대한 기본 성능 및 호환성

QIAamp DSP DNA Blood Mini 진공 절차의 기본 성능이 백혈구 수가 $3.8 \times 10^6 \sim 1.34 \times 10^7$ cells/ml인 건강한 공여자의 혈액에 대해 결정되었습니다(그림 1 참조).

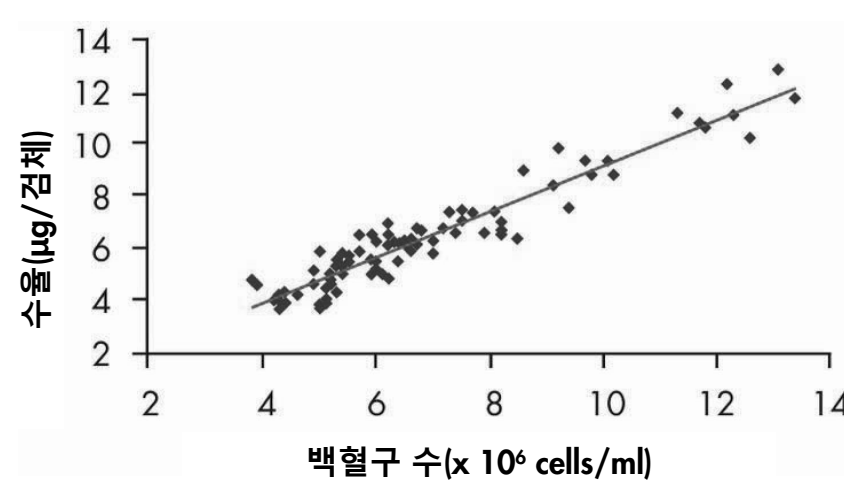


그림 1. 200 µl 용출량으로 QIAamp DSP DNA Blood Mini 진공 절차를 사용하여 관찰한 수율. 건강한 공여자의 백혈구 수가 결정되었고 그 범위는 $3.8 \times 10^6 \sim 1.34 \times 10^7$ cells/ml였습니다. DNA는 200µl 용출량으로 QIAamp DSP DNA Blood Mini 진공 절차를 사용하여 혈액 검체로부터 정제되었습니다. 87개 3중복 검체가 처리되었습니다.

QIAamp DSP DNA Blood Mini 절차에서 정제되는 DNA 양은 각 혈액 검체 백혈구 함량에 따라 다릅니다. 스핀 또는 진공 절차를 사용하여, 건강한 공여자의 200 µl 혈액 검체로부터 유전체 DNA를 정제합니다. QIAamp DSP DNA Blood Mini 절차를 위한 혈액 검체를 수집하게 위해 다양한 다른 일차 튜브 및 항응고제를 사용할 수 있습니다(표 1).

표 1. 다양한 일차 튜브 및 항응고제를 사용하여 수집된 혈액 검체로부터의 DNA에 대한 평균 상대 수율

일차 튜브	제조업체	카탈로그 번호	공칭 용량	평균 수율*
BD™ Vacutainer® 9NC	BD	366007	9 ml	6.4 µg
BD Vacutainer K3E	BD	36847	10 ml	6.6 µg
BD Vacutainer K2E	BD	367864	6 ml	6.4 µg
S-Monovette® EDTA	Sarstedt®	02.1066.001	9ml	6.5 µg
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	8.5ml	6.3 µg
Vacurette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	9ml	6.5 µg
Vacurette 9NC	Greiner Bio-One	454382	2ml	6.3 µg

유전체 DNA는 건강한 공여자의 200 µl 혈액 검체로부터 정제되었습니다(ml당 4.0 ~ 9.0 x 10⁶ cells).

* 각 일차 튜브의 경우, 평균 수율은 11개의 3중복 검체로부터 결정됩니다.

용출된 유전체 DNA는 여러 다운스트림 분석에서 사용될 준비가 되어 있습니다.

검체 투입/용출 범위 및 DNA 순도

200µl 전혈에서 유전체 DNA 분리를 위해 다양한 용출량을 선택할 수 있습니다. 수동 절차의 용출량은 50 ~ 200µl입니다. 완전 자동화된 스피ن 작업 흐름의 경우 100 및 200µl이 가능한 용출량이고 부분적으로 자동화된 스피ن 작업 흐름의 경우(수동 용해 후) 100 ~ 200µl(10µl 증분)이 용출량입니다. 보다 소량의 용출은 용출액의 최종 DNA 농도를 증가시키지만 전체 DNA 수율을 약간 감소시킵니다. 계획된 후속 분석에 적합한 용출량을 사용하는 것이 좋습니다.

전체 DNA 농도에 대해 여러 용출량이 미치는 영향을 평가했습니다. 그림 2는 용출량을 줄였을 때 용출액 내 DNA 농도가 증가했음을 보여 줍니다.

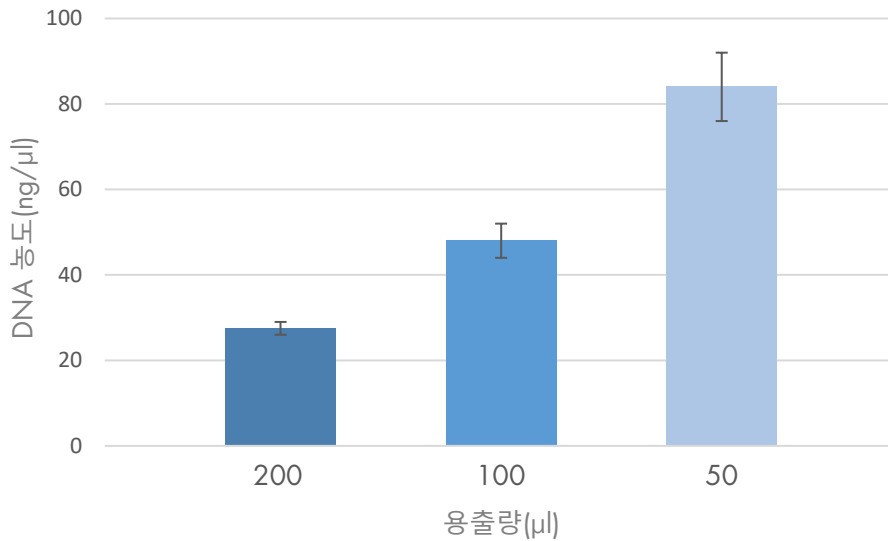


그림 2. 용출량이 다른 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit를 사용하여 전혈에서 DNA를 분리한 후 얻은 DNA 농도입니다. 그래프의 각 막대는 32개 복제물로부터의 결과를 나타냅니다(평균 ± 표준편차).

또한, DNA 순도에 대한 지표로서, 260nm와 280nm에서의 흡광도 사이의 비율을 여러 테스트 용출량에 대해 측정했습니다. 서로 다른 용출량 간에 차이가 관찰되지 않았으며, 전체 평균 비율은 단백질 오염이 낮다는 것을 나타냅니다.

정밀도

QIAcube Connect MDx의 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit를 사용하여 전혈에서 인간 유전체 DNA를 자동으로 추출하기 위해 변동 계수(Coefficient of Variation, CV)가 측정되었습니다. 총 DNA 수율을 OD 측정을 통해 파악했습니다.

반복성(한 번의 정제 실행 내에서 실행 내 변동성)과 중간 정밀도(여러 조작자가 있는 여러 정제 실행에 걸쳐, 여러 기기에서, 여러 날에 걸쳐 실행 간 변동성)가 확인되었습니다. 정밀도 데이터는 표 2에 나와 있습니다.

표 2. 정밀도 추정치 분석

정밀도	CV(%)
중간 정밀도	1.65
반복성	6.09
총 정밀도	6.24

수동 진공 절차의 경우 중간 정밀도, 반복성 및 재현성을 평가하기 위해 평균 수율과 CV를 결정하고 평가했습니다. 또한 사내 real-time PCR 분석의 DNA 무결성 및 성능을 분석했습니다.

검체 안정성

참고: 검체 안정성은 다양한 요인에 따라 크게 달라지며, 특정 다운스트림 공정과 관련이 있습니다. 이것은 예시 다운스트림 공정으로 평가되었습니다. 사용자는 자신의 실험실에서 사용되는 특정 다운스트림 공정의 사용 설명서를 참조하거나 적절한 보관 조건을 설정하기 위해 전체 작업 흐름을 검증해야 합니다.

동결 및 해동 EDTA 처리 혈액 검체가 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit를 사용한 DNA 정제에 미치는 영향이 확인되었습니다. 수율(그림 3 참조)이나 다운스트림 분석의 성능에서 유의미한 감소는 관찰되지 않았습니다.

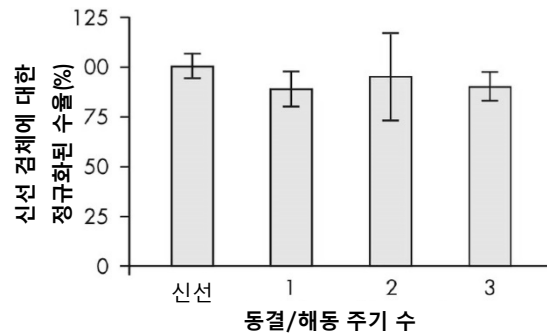


그림 3. 혈액 검체의 동결 및 해동 영향. EDTA 처리 혈액은 최대 3회까지 동결 및 해동되었고, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit를 사용한 DNA 정제에 사용되었습니다. 계산된 DNA 수율은 신선한 검체로부터의 수율(100%)로 정규화됩니다. 그래프의 각 막대는 32개 복제물로부터의 결과를 나타냅니다(평균 ± 표준편차).

용출액 안정성

참고: 용출 안정성은 다양한 요인에 크게 의존하며 특정 다운스트림 공정과 관련이 있습니다. 이것은 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit에 대해 예시 다운스트림 공정과 함께 평가되었습니다. 사용자는 자신의 실험실에서 사용되는 특정 다운스트림 공정의 사용 설명서를 참조하거나 적절한 보관 조건을 설정하기 위해 전체 작업 흐름을 검증해야 합니다.

분광법 및 사내 real-time PCR 분석으로 인간 혈액에서 핵산을 추출한 후 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit에 대한 용출 안정성을 평가했습니다. 용출된 DNA는 2 ~ 8°C에서 최대 4주 동안 보관할 수 있습니다. 장기 보관의 경우 -20°C에서 보관하는 것이 좋습니다.

간섭 물질

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit를 사용하여 gDNA 분리 후 예시적인 다운스트림 분석에 미치는 영향을 테스트하기 위해 환자 전혈에 존재하는 다양한 잠재적 외인성 및 내인성 간섭 물질을 혈액 검체에 주입했습니다.

용혈(인간 헤모글로빈), 지질혈증(트리글리세라이드), 황달(빌리루빈 비결합)에 대한 공통적인 관련 잠재적 간섭 물질을 평가했습니다. 또한, 항응고제 K2-EDTA, K3-EDTA, Na2-EDTA 농도의 간섭 효과가 이미 채집 튜브에 존재하는 것보다 3배 높게 평가되었습니다. 이러한 잠재적 간섭과 암 치료에 일반적으로 사용되는 약과 같은 약 20개의 추가 잠재적 간섭에 대해 유의미한 부정적 영향이 관찰되지 않았습니다. 따라서 환자 검체에서 발견될 가능성이 높습니다.

참고: 테스트는 추출된 핵산의 품질을 평가하기 위해 예시적인 다운스트림 공정을 사용하여 수행되었습니다. 그러나 여러 다운스트림 공정마다 순도와 관련하여 요구 사항이 다를 수 있습니다(즉, 잠재적인 간섭 물질의 부재 또는 농도). 따라서 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit와 관련된 작업 흐름에 대한 다운스트림 공정 개발의 일부로서 관련 물질 및 각 농도의 식별 및 테스트도 확립해야 합니다.

잠재적인 간섭 물질(예: 약물) 및 해당 농도는 환자의 다운스트림 공정 및 가능한 이전 치료법에 매우 고유하며, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit를 사용하여 이러한 다운스트림 공정을 확인하는 동안 조사해야 합니다.




참고: ISO 20186-2:2019(E)에 따르면, 혈액 채집 튜브의 헤파린은 분리된 핵산의 순도에 영향을 미칠 수 있으며, 용출액으로의 가능한 캐리오버는 일부 다운스트림 공정에서 억제를 일으킬 수 있습니다. 따라서 혈장 준비 시 항응고제로서 EDTA 또는 구연산염으로 처리된 혈액 검체를 사용하는 것이 좋습니다.

교차 오염

QIAcube Connect MDx의 핵산 자동 정제에 대한 교차 오염 위험은 예시적인 QIAamp 작업 흐름을 사용하여 체커무늬 배치(양성 및 음성 검체가 교체)를 교대로 12개 검체 실행을 5차례 수행하여 분석했습니다(DNA 바이러스 1.00E+07 copies/ml의 혈장 및 혈청 검체와 함께 QIAamp DSP Virus Spin). 추출 실행 중 음성 검체의 잠재적 오염은 사내 real-time PCR 분석을 사용한 용출액의 후속 분석으로 평가했습니다. 검체 대 검체 또는 실행 대 실행 캐리오버에 대해 교차 오염이 감지되지 않았습니다.

기호

다음 기호가 이 문서에 나타납니다. 사용 설명서 또는 포장 및 라벨에 사용된 기호의 전체 목록은 안내서를 참조하십시오.

기호	기호 정의
	이 제품은 체외 진단 의료 기기에 대한 유럽 규정 2017/746의 요구 사항을 충족합니다.
	체외 진단용 의료 기기
	카탈로그 번호
Rn	R은 사용 설명서의 개정 버전을 나타내며, n은 개정 번호입니다
	제조업체

개정 이력

개정

설명

R1, 2022년 6월

버전 3, 개정 1

- IVDR 규정 준수를 위해 버전 3으로 업데이트
- 키트 안내서에 있는 성능 특징을 이 문서로 전송하고 업데이트합니다.
 - 기본 성능 및 호환성에서 다운스트림 분석 성과 섹션 및 정제된 DNA 수율 섹션을 다른 다운스트림 공정 섹션에 전송합니다
 - 검체 투입/용출 범위와 DNA 순도 섹션 추가
 - 정밀도 섹션 추가
 - 용출 안정성 섹션 업데이트
 - 검체 안정성 섹션 추가
 - 간섭 물질 섹션 추가
 - 교차 오염 섹션 추가
 - 기호 섹션 추가
 - 개정 이력 섹션 추가

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

상표: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAcube®, Pyrosequencing® (QIAGEN Group); BD™, Vacuainer® (Becton Dickinson and Company); S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.); Vacuette® (Greiner Bio-One GmbH);. 이 문서에 사용된 등록된 이름, 상표 등은 별도로 표시되지 않은 경우에도 법적 보호를 받는 것으로 간주됩니다.

HB-3030-D01-001 © 2022 QIAGEN, 모든 권리 보유.

