

2021 年 11 月

QIAamp[®] DSP Circulating NA Kit 使用說明（使用手冊）



第 1 版

IVD

CE

REF

61504



QIAGEN GmbH

QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 德國

R1 **MAT**

1126217TW

目錄

預期用途	4
摘要與說明	4
說明及原理	5
樣本體積	5
溶解樣本	7
吸附至 QIAamp Mini 管柱膜	7
去除殘留污染物	7
純循環游離 DNA 洗脫	7
循環游離 DNA 產量及大小	8
操作程序說明	8
提供的材料	9
試劑組內容物	9
需要但並未提供的材料	10
警告和注意事項	11
安全資訊	11
試劑儲存與處理	13
試樣儲存與處理	14
程序	15
製備緩衝液和試劑	21
Breeze 操作程序：從 1–5 ml 的人類血漿純化循環游離 DNA	23
傳統操作程序：從 1–5 ml 的人類血漿純化循環游離 DNA	28
品質控制	33

限制.....	33
參考資料.....	34
疑難排解指南.....	35
符號.....	37
聯絡資訊.....	39
附錄 A：血漿分離和儲存建議.....	40
訂購資訊.....	41
文件修訂歷程記錄.....	42

預期用途

QIAamp DSP Circulating NA Kit 系統利用矽膜技術（QIAamp 技術），分離及純化人類血漿樣本的循環游離 DNA。

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。

摘要與說明

人類血漿中的游離循環 DNA 通常為短片段 <1000 bp。人類血漿中的游離循環 DNA 濃度通常很低，且不同個體之間變異極大，在人類樣本中介於 1 – 100 ng/ml (1-3)。

QIAamp DSP Circulating NA Kit 可從人類血漿有效純化循環游離 DNA。可以採用新鮮取得或冷凍的樣本。QIAvac 24 Plus 上的延伸試管和真空處理，允許處理最多 5 ml 的起始樣本體積，並允許 20 – 150 µl 的彈性洗脫體積，可濃縮低濃度的循環游離 DNA。

洗脫的游離循環基因體 DNA，可立即用於下游應用或適合儲存。QIAamp DSP Circulating NA Kit 可有效去除蛋白質、核酸酶和其他雜質。

說明及原理

QIAamp DSP Circulating NA 程序包含 4 個步驟（溶解、結合、沖洗和洗脫），且使用 QIAvac 系統上的 QIAamp Mini 管柱進行。穩健的程序在處理可能具有感染性的樣本時，可減少樣本間的交叉污染，並增進使用者的安全性。

簡單的程序適合在 2 小時內同時處理最多 24 份樣本。

樣本體積

QIAamp Mini 管柱會與最短 20 nt 的核酸片段結合，但產量依據樣本體積和樣本中的循環游離 DNA 濃度（在血漿中通常為 1 - 100 ng/ml）而定。QIAamp DSP Circulating NA 程序已針對多達 5 ml 的樣本體積最佳化。

QIAamp DSP Circulating NA Kit 程序

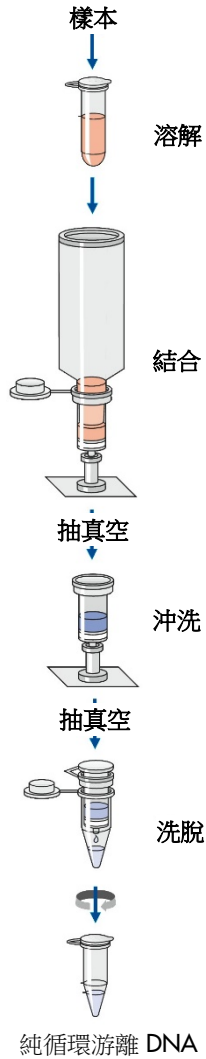


圖 1 : QIAamp DSP Circulating NA Kit 程序概覽。

溶解樣本

生物性液體中游離的循環 DNA，通常會與蛋白質結合或包含於液泡中，需要有效的溶解步驟以釋出 DNA，並與 QIAamp Mini 管柱選擇性結合。因此樣本會在蛋白酶 K 和 Buffer ACL 存在時，於溫度升高的高度變性條件下溶解，可確保 DNases 去活化，並從結合的蛋白質、脂質和液泡釋出 DNA。

吸附至 QIAamp Mini 管柱膜

為了讓循環游離 DNA 以最佳方式結合到膜上，會添加 Buffer ACB 到溶胞物中，以調整結合條件。接著將溶胞物轉移到 QIAamp Mini 管柱上，在溶胞物受真空壓力吸引而通過管柱後，大體積中的循環游離 DNA 會吸附於矽膜。鹽分和 pH 條件可確保絕大多數蛋白質和其他污染物，不會滯留於 QIAamp Mini 管柱膜，以避免抑制 PCR 及其他下游酵素反應。

操作程序需要一個真空歧管（例如 QIAvac 24 Plus 搭配 QIAvac Connecting System）和能夠產生 ~800 - 900 mbar 的真空幫浦（例如 QIAGEN® Vacuum Pump）。應使用 Vacuum Regulator（QIAvac Connecting System 的一部分）以輕易監測真空壓力和方便釋放真空。

去除殘留污染物

循環游離 DNA 會持續結合於膜上，而污染物會在 3 個沖洗步驟中有效沖洗。

純循環游離 DNA 洗脫

使用 Buffer AVE 進行洗脫。在單一步驟中，高純度循環游離 DNA 會在 Buffer AVE 中洗脫，並與室溫達到平衡。可加入 50–150 µl 的彈性洗脫體積。如果需要較高的循環游離 DNA 濃度，洗脫體積可減少到最低 20 µl。加入低於 50 µl 的洗脫體積，可獲得較濃的循環游離 DNA 洗脫液，但是總產量可能較低。

回收的洗脫液體積，可能比加至管柱的洗脫緩衝液體積減少多達 5 µl。

循環游離 DNA 產量及大小

從生物性樣本分離的游離循環游離 DNA 產量通常低於 1 µg，因此不易使用光譜儀定量濃度。在不同個體的樣本之間，使用 QIAamp DSP Circulating NA Kit 從樣本取得的循環游離 DNA 的絕對產量有所不同，也會依據其他因素而定（例如特定疾病狀態）。此外，萃取後循環游離 DNA 中存在的載體 RNA，可能會決定 UV 吸收讀值（參見第 22 頁）。建議使用定量擴增方法測定產量。

使用 QIAamp DSP circulating NA Kit 純化的循環游離 DNA 之大小分佈，可採用瓊脂凝膠電泳、雜交至目標專一性標記探針 5 或微流體電泳解決方案（例如，Agilent Bioanalyzer）確認。

操作程序說明

本使用手冊中提供兩種不同的操作程序。

「Breeze 操作程序：從 1 – 5 ml 的人類血漿純化循環游離 DNA」（第 23 頁）用於以 1 ml 步驟處理最多 5 ml 血漿，並已針對縮短的手動操作及處理時間最佳化。

「傳統操作程序：從 1 – 5 ml 的人類血漿純化循環游離 DNA」（第 28 頁）用於以 1 ml 步驟處理最多 5 ml 血漿，並構成 QIAamp DSP circulating NA Kit 使用手冊第 3 修訂版 (R3) 中的固定操作程序。

提供的材料

試劑組內容物

QIAamp DSP Circulating NA Kit			(50)
產品編號			61504
製備次數			50
QIAamp Mini	QIAamp Mini columns with Wash Tubes (WT) (QIAamp Mini 管柱搭配沖洗試管 (WT)) (2 ml)	COL	50
EXT	Column Extenders (管柱延伸管) (20 ml)	COL EXT	2 x 25
WT	Wash Tubes (沖洗試管) (2 ml)	WASH TUBE	50
ET	Elution Tubes (洗脫試管) (1.5 ml)	ELU TUBE	50
VC	VacConnectors (真空連接器)	VAC CON	50
ACL*	Lysis Buffer* (溶解緩衝液*)	LYS BUF	220 ml
ACB*	Binding Buffer* (結合緩衝液*) (濃縮液)	BIND BUF CONC	300 ml
ACW1*	Wash Buffer 1* (清洗緩衝液 1*) (濃縮液)	WASH BUF 1 CONC	19 ml
ACW2†	Wash Buffer 2† (清洗緩衝液 2†) (濃縮液)	WASH BUF 2 CONC	13 ml
AVE‡	Elution Buffer‡ (洗脫緩衝液‡) (紫蓋)	ELU BUF	5 x 2 ml
PROTK	QIAGEN Proteinase K (QIAGEN 蛋白酶 K)	PROTK	4 x 7 ml
載體	Carrier RNA (載體 RNA) (紅蓋)	CAR RNA	310 µg
	使用說明 (使用手冊)	H B	1

* 含有離液鹽。參閱第 11 頁的警告和注意事項。

† 含有疊氮化鈉作為防腐劑。

需要但並未提供的材料

在操作化學物質時，務必穿戴合適的實驗室工作服、拋棄式手套和護目鏡。更多資訊請參閱相應的安全資料表 (Safety Data Sheets, SDS)，可向產品供應商索取。

確保根據製造商的建議對儀器進行檢查和校準。

對於所有操作程序

- 微量滴管（可調整）
- 無菌微量滴管吸頭（建議使用具氣溶膠屏障的微量滴管吸頭，以協助預防交叉污染）
- 能夠在 56°C 或 60°C 下容納 50 ml 離心管的水浴槽或加熱塊 *
- 加熱塊或類似裝置，可在 56°C 下容納 2 ml 沖洗試管（僅限於傳統操作程序）*
- 微量離心機（包含用於 2 ml 試管的轉子）*
- 50 ml 離心管
- QIAvac 24 Plus vacuum manifold（產品編號 19413）
- QIAvac Connecting System（產品編號 19419）或相當裝置
- Vacuum Pump（產品編號 84010 [美國和加拿大]、84000 [日本] 或 84020 [世界其他地區]）或能夠產生 -800 至 -900 mbar 的相當幫浦
- 乙醇 (96 - 100%)[†]
- 異丙醇 (100%)
- 碎冰（僅限於「傳統操作程序：從 1 - 5 ml 的人類血漿純化循環游離 DNA」）
- 一些樣本可能需要以磷酸鹽緩衝食鹽水 (Phosphate-Buffered Saline, PBS) 稀釋
- 選擇性：VacValves（真空閥）（產品編號 19408）

* 確實按照生產商的建議檢查並校正儀器。

[†] 不要使用含有甲醇或甲基乙基酮等其他物質的變性乙醇。

警告和注意事項

請注意，您可能需要向製造商及主管機關，通報涉及使用者及/或患者的器材相關嚴重事件。

安全資訊

供體外診斷使用

在操作化學物質時，務必穿戴合適的實驗室工作服、拋棄式手套和護目鏡。如需瞭解更多資訊，請參閱相應的安全資料表 (Safety Data Sheets, SDS)。這些安全資料表以簡潔方便的 PDF 格式在線上提供：www.qiagen.com/safety，對於每種 QIAGEN 試劑組和每種試劑組成分，您可以從中找到、瀏覽並列印 SDS。

警告

人身傷害風險



不得將漂白劑或酸性溶液直接添加到樣本製備廢棄物中。

Buffer ACL、Buffer ACB 和 Buffer ACW1 含有胍鹽，與漂白劑結合時會形成高度反應性化合物。

如果含有這些緩衝液的液體溢出，要用適當的實驗室清潔劑和清水清潔。如果潑灑的液體含有潛在感染性試劑，請首先使用實驗室清潔劑和水來清潔受影響區域，然後使用 1% (v/v) 次氯酸鈉進行清潔。

用於 QIAamp DSP Circulating NA Kit 成分的危害及預警說明如下所示：

Buffer ACB



含有：硫氰酸胍。危險！如果吞嚥會有危害。接觸皮膚或吸入時可能有害。造成嚴重皮膚灼傷和眼睛損傷。對水生生物有持久傷害。與酸接觸會釋放高毒性的氣體。穿戴防護手套/防護衣/護目鏡/防護面罩。如果接觸眼睛：用水小心地沖洗幾分鐘。如果配戴隱形眼鏡且可輕易移除，則移除隱形眼鏡。繼續清洗。立即聯絡毒物中心或醫師。

Buffer ACL



含有：硫氰酸胍。危險！如果吞嚥會有危害。接觸皮膚或吸入時可能有害。造成嚴重皮膚灼傷和眼睛損傷。對水生生物有持久傷害。與酸接觸會釋放高毒性的氣體。穿戴防護手套/防護衣/護目鏡/防護面罩。如果接觸眼睛：用水小心地沖洗幾分鐘。如果配戴隱形眼鏡且可輕易移除，則移除隱形眼鏡。繼續清洗。立即聯絡毒物中心或醫師。

Buffer ACW1



含有：guanidine hydrochloride。警告！如果吞嚥或吸入會有害。造成皮膚刺激。造成嚴重眼睛刺激。穿戴防護手套/防護衣/護目鏡/防護面罩。

蛋白酶 K



包含：蛋白酶 K。危險！造成輕微皮膚刺激。如果吸入，可能會造成過敏、氣喘症狀或呼吸困難。避免吸入灰塵/煙塵/煤氣/霧氣/蒸汽/噴霧。穿戴防護手套/防護衣/護目鏡/防護面罩。配戴呼吸防護品。如果暴露或擔憂可能暴露：請聯絡毒物中心或醫師/內科醫師。將受害者移往通風良好場所，並保持呼吸順暢。

試劑儲存與處理

QIAamp Mini 管柱應在 2 – 8°C 下乾燥儲存。所有緩衝液應在室溫 (15 – 25°C) 下儲存。QIAamp Mini 管柱和緩衝液可在上述條件下，儲存至試劑組外盒上標示的保存期限，這段期間效能不會下降。

冷凍乾燥的載體 RNA 應在室溫 (15 – 25°C) 下儲存，直到成分標籤上標示的保存期限。載體 RNA 應溶於 Buffer AVE；溶解的載體 RNA 應針對 Breeze 操作程序（如第 24 頁所述），且針對傳統操作程序（如第 29 頁所述），立即加入 Buffer ACL。此溶液應新鮮製備。溶於 Buffer AVE 的載體 RNA 如未使用完畢，應等量分裝後於 –30 至 –15°C 下冷凍。

QIAamp DSP Circulating NA Kit 包含立即可用的蛋白酶 K 溶液，溶於專門調配的儲存緩衝液中。蛋白酶 K 存放於室溫 (15 – 25°C) 時，在成分標籤上標示的保存期限前可維持穩定。

試樣儲存與處理

血液儲存與處理

為了避免游離 DNA 降解和釋出細胞核酸，建議全血在 2 - 8°C 下最多儲存 6 小時（例如 EDTA 樣本）。如果使用穩定處理的收集管，請考慮採行製造商提供的儲存條件。建議配合特定下游應用與目標，以驗證這些儲存條件。

血漿儲存與處理

使用 EDTA 作為抗凝劑時，建議捐血後立即分開血漿並分離循環游離 DNA。短期儲存時，血漿可在 2-8°C 下儲存最多 24 小時。

長期儲存時，來自穩定處理及未穩定處理收集管的血漿等分，可在 -30 至 -15°C 或 -90 至 -65°C 下儲存至少 4 週。

儲存洗脫的循環游離 DNA

洗脫的循環游離 DNA 以 1.5 ml 洗脫試管（隨附）收集。純化的循環游離 DNA 可在 2-8°C 下儲存最多 24 小時。對於超過 24 小時的儲存期，建議在 -30 到 -15°C 下儲存。

程序

開始前要點

QIAvac 24 Plus

QIAvac 24 Plus 可快速有效的並列真空處理最多 24 個 QIAGEN 離心管柱。以真空（而非離心）將樣本和沖洗溶液吸引通過管柱膜，具有更快速度並縮短純化程序的手動操作時間。

配合使用 QIAvac Connecting System 時，QIAvac 24 Plus 可作為流通系統。流通樣本會收集到個別的廢液瓶內。

有關 QIAvac 24 Plus 的維護，請參閱 *QIAvac 24 Plus 使用手冊* 中的處理準則。

在 QIAvac 24 Plus 上處理 QIAamp Mini 管柱

會使用拋棄式 VacConnectors 和可重複使用的 VacValves，在 QIAvac 24 Plus 上處理 QIAamp Mini 管柱。將 VacValves（選擇性）直接插入 QIAvac 24 Plus 歧管的快速接頭插槽內，並確保穩定流速，有助於並列處理不同的樣本體積。應在樣本流速顯著不同時使用，以確保真空的一致性。VacConnectors 為拋棄式連接器，安裝在 QIAamp Mini 管柱和 VacValves 之間，或安裝在 QIAamp Mini 管柱和 QIAvac 24 Plus 快速接頭插槽之間。可在純化期間防止離心管柱和 VacValve 直接接觸，進而避免樣本間發生交叉污染。VacConnectors 會在單次使用後棄置。由於使用的溶液體積很大，需要 QIAvac Connecting System（或配備廢液瓶的類似設置）（參見圖 2）。

QIAvac 24 Plus 的處理準則

- 務必將 QIAvac 24 Plus 放在穩固的工作檯面或工作區。如果發生意外掉落，QIAvac 24 Plus 歧管可能會破裂。
- 務必在乾淨、乾燥的情況下存放 QIAvac 24 Plus。有關清潔程序，請參閱 *QIAvac 24 Plus 使用手冊*。
- QIAvac 24 Plus 的組件無法耐受特定溶劑（表 1）。如果這些溶劑濺灑到裝置上，請用清水徹底沖洗。
- 為了確保具有一致的效能，請勿將砒油或真空潤滑膏塗抹於 QIAvac 24 Plus 歧管的任何部分。
- 在承受壓力的真空歧管附近作業時，務必謹慎並穿戴安全防護眼鏡。
- 有關備用或更換零件的資訊，請聯絡 QIAGEN 技術服務部或當地經銷商。
- 真空壓力為真空歧管內側與大氣之間的壓力差（標準大氣壓為 1013 millibar 或 760 mmHg），並可使用 QIAvac Connecting System 測量（參見圖 2）。操作程序要求能夠產生 -800 至 -900 mbar 真空的真空幫浦（例如 QIAGEN Vacuum Pump）。必須避免更高的真空壓。使用低於建議值的真空壓，可能會降低循環游離 DNA 產量和純度，並增加膜堵塞的風險。

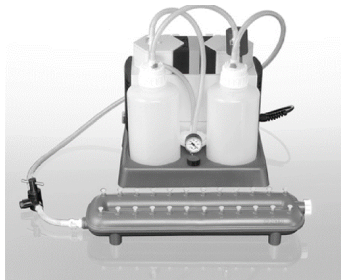


圖 2。QIAvac 24 Plus、QIAvac Connecting System 和 Vacuum Pump。

表 1：QIAvac 24 Plus 的化學耐受特性

可耐受		無法耐受
乙酸	離液鹽	苯
鉻酸	濃縮醇類	酚
SDS	氯化鈉	氯仿
Tween® 20	尿素	甲苯
含氯漂白劑	鹽酸	醚類
氫氧化鈉		

設置 QIAvac 24 Plus vacuum manifold

- 將 QIAvac 24 Plus 連接至真空來源。如果使用 QIAvac Connecting System，依據 QIAvac 24 Plus 使用手冊的附錄 A 所述，將系統連接到歧管和真空來源。
- 將 VacValve（選擇性）插入要使用之 QIAvac 24 Plus 的每個快速接頭插槽（參見圖 3）。以快速接頭栓關閉未使用的快速接頭插槽，或關閉已插入的 VacValve。如果樣本流速顯著不同，應使用 VacValves 以確保真空的一致性。
- 將 VacConnector 插入每個 VacValve（參見圖 3）。
在即將開始純化前執行此步驟，以避免 VacConnectors 暴露到空氣中的潛在污染物。
- 將 QIAamp Mini 管柱放入歧管上的 VacConnectors（參見圖 3）。
備註：保留泡殼包裝內的沖洗試管，用於純化操作程序。
- 將管柱延伸管 (20 ml) 插入每個 QIAamp Mini 管柱（參見圖 3）。
備註：確認管柱延伸管確實插入 QIAamp Mini 管柱，以避免樣本滲漏。
- 對於循環游離 DNA 純化，請遵循操作程序中的說明。使用後適當棄置 VacConnectors。施加真空時，讓 QIAamp Mini 管柱的蓋子維持開啟。
在各步驟之間關閉真空，以確保處理期間施加一致、均勻的真空。如需快速釋放真空，應使用 Vacuum Regulator（QIAvac Connecting System 的一部分）。
備註：樣本受完全吸引而通過離心管柱後，可個別關閉每個 VacValve，以並列處理不同體積或黏性的樣本。
- 處理樣本之後，請清潔 QIAvac 24 Plus（參閱 QIAvac 24 Plus 使用手冊中的「QIAvac 24 Plus 的清潔和去污」）。

備註： Buffer ACL、Buffer ACB 和 Buffer ACW1，與含有漂白劑的消毒劑不相容。參閱第 11 頁的 警告和注意事項。

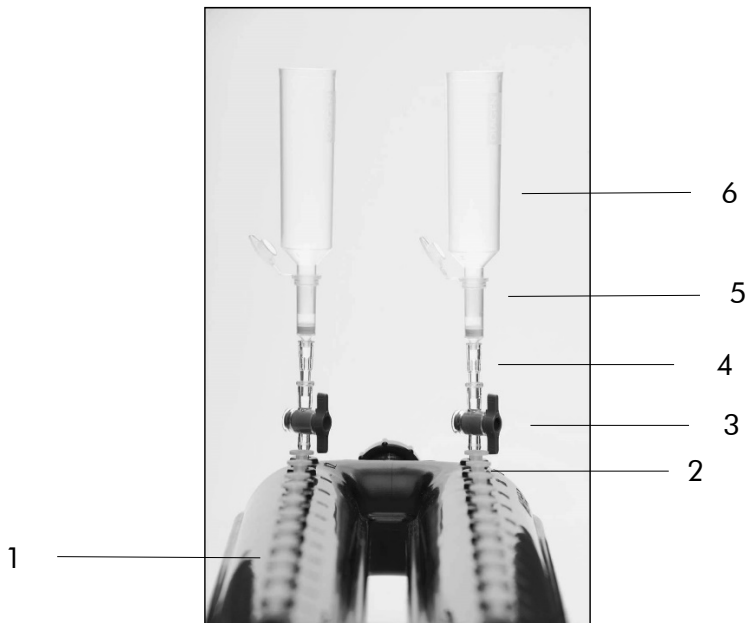
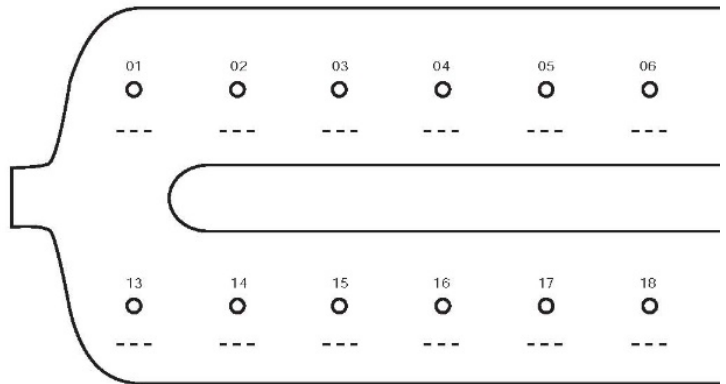


圖 3。 使用 VacValves、VacConnectors 和管柱延伸管設置 QIAvac 24 Plus 與 QIAamp Mini 管柱。

- | | |
|--|-----------------------|
| 1 QIAvac 24 Plus vacuum manifold | 4 VacConnector（真空連接器） |
| 2 QIAvac 24 Plus 的快速接頭插槽
（以快速接頭栓閉合） | 5 QIAamp Mini 管柱 |
| 3 VacValve* | 6 管柱延伸管 |

建議依據圖 4 中的圖例，標示用於 QIAvac 24 Plus 真空系統的試管和 QIAamp Mini 管柱，以避免混淆樣本。此圖可複印並標示檢體名稱。

* 必須另行購買。



日期： _____

操作人員： _____

執行識別碼 (ID)： _____

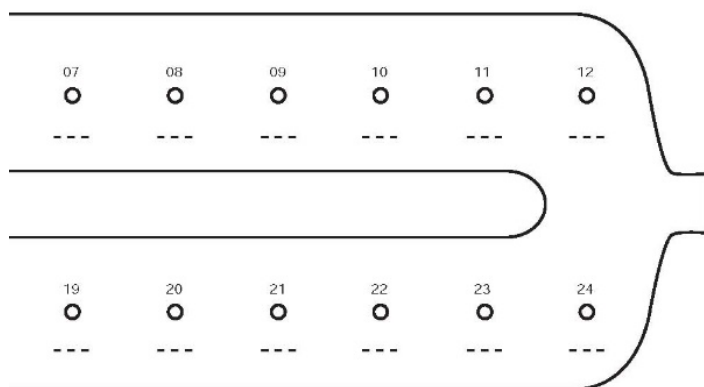


圖 4。用於 QIAvac 24 Plus 真空系統之試管和 QIAamp Mini 管柱的標示方式圖例。

製備緩衝液和試劑

Buffer ACB

使用前，將 200 ml 異丙醇 (100%) 加至 300 ml Buffer ACB 濃縮液，以取得 500 ml Buffer ACB。添加異丙醇後徹底混合。

Buffer ACW1 *

使用前，將 25 ml 乙醇 (96 - 100%) 加至 19 ml Buffer ACW1 濃縮液，以取得 44 ml Buffer ACW1。添加乙醇後徹底混合。

Buffer ACW2 †

使用前，將 30 ml 乙醇 (96 - 100%) 加至 13 ml Buffer ACW2 濃縮液，以取得 43 ml Buffer ACW2。添加乙醇後徹底混合。

添加載體 RNA 至 Buffer ACL*

載體 RNA 可增強循環游離 DNA 與 QIAamp Mini 膜的結合，特別是樣本中目標分子極少的時候。

隨附的冷凍乾燥載體 RNA 數量，足以用於試劑組隨附的 Buffer ACL 體積。已調整載體 RNA 的建議濃度，讓 QIAamp DSP Circulating NA 操作程序可作為通用純化系統，與許多不同擴增系統相容，且適用於多種循環游離 DNA 目標。

* 含有離液鹽。參閱第 12-13 頁的警告和注意事項。

† 含有疊氮化鈉作為防腐劑。

依據反應中包含的循環游離 DNA 總量，不同擴增系統的效率不同。來自試劑組的洗脫液包含循環游離 DNA 和載體 RNA，而在大部分情況下，載體 RNA 的數量會遠超出循環游離 DNA 的數量。因此不適合以 UV 吸收讀值方法來定量分離的循環游離 DNA，因為此類測量的結果會由載體 RNA 決定。

為了在擴增反應中取得最高的靈敏度，可能需要減少加入 Buffer ACL 的載體 RNA 數量。

對於含有寡 dT 引子的擴增系統，循環游離 DNA 分離期間不應添加載體 RNA。

添加 1550 μl Buffer AVE* 到含 310 μg 冷凍乾燥載體 RNA 的試管，以取得濃度 0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 的溶液。徹底溶解載體 RNA，等量分裝成方便使用的容量，然後儲存於 -30 至 -15°C。請勿冷凍-解凍等量分裝後的載體 RNA 超過 3 次。

請注意，載體 RNA 不會溶於 Buffer ACL。必須先溶於 Buffer AVE，然後再加入 Buffer ACL。

依據操作程序中的表格，計算每個批次樣本所需的 Buffer ACL - 載體 RNA 混合液體積。選擇要同時處理的樣本數。

翻轉試管或瓶子 10 次，輕輕混合。請勿振盪，以避免形成泡沫。

備註：樣本製備程序已針對每份樣本最多 1.0 μg 的載體 RNA 最佳化。如果已證實較少載體 RNA 較適合您的擴增系統，僅將所需數量的已溶解載體 RNA 轉移到含 Buffer ACL 的試管。對於每次製備所需的每微克載體 RNA，將 5 μl 的已溶解載體 RNA 添加到 Buffer ACL。（每份樣本使用少於 1.0 μg 載體 RNA 可能有益，且必須針對每種特定樣本類型和下游檢測進行驗證。）

*含有疊氮化鈉作為防腐劑。

Breeze 操作程序：從 1 – 5 ml 的人類血漿純化循環游離 DNA

此操作程序用於從 1 – 5 ml 的人類血漿純化循環游離 DNA，並已針對縮短的手動操作及處理時間最佳化。對於使用 QIAamp DSP circulating Kit 版本 1/R3 的現有經使用者驗證工作流程，請參閱「傳統操作程序：從 1 – 5 ml 的人類血漿純化循環游離 DNA」（第 28 頁）。

開始前要點

- 所有離心步驟皆在室溫 (15-25°C) 進行。
- 在各步驟之間關閉真空，以確保在操作程序步驟期間施加一致、均勻的真空。
- **備註：** Vacuum Pump 壓力應介於 -800 到 -900 mbar。
- 讓樣本與室溫達到平衡。
- 使用磷酸鹽緩衝食鹽水，讓樣本體積盡量接近精確體積（1 ml 到 5 ml）。
- 依據第 17 頁所述設置 QIAvac 24 Plus。
- 將水浴槽或加熱塊加熱到 56°C，供步驟 3 的 50 ml 離心管使用。
- 使用前讓 QIAamp Mini 離心管柱與室溫達到平衡至少 1 小時。
- 確認已依據第 21 頁的說明製備 Buffer ACB、Buffer ACW1 和 Buffer ACW2（添加異丙醇或乙醇）。
- 依據表 2 中的說明，將以 Buffer AVE 配製的載體 RNA 加至 Buffer ACL。

表 2：處理 1 – 5 ml 人類血漿樣本所需的 Buffer ACL 和載體 RNA（溶於 Buffer AVE）體積

設定血漿量 (ml)	A	B	C	D	E	Buffer AVE 中的 載體 RNA (µl)
	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml	
樣本數量	Buffer ACL (ml)					
1	0.9	1.8	2.6	3.5	4.4	5.6
2	1.8	3.5	5.3	7.0	8.8	11.3
3	2.6	5.3	7.9	10.6	13.2	16.9
4	3.5	7.0	10.6	14.1	17.6	22.5
5	4.4	8.8	13.2	17.6	22.0	28.1
6	5.3	10.6	15.8	21.1	26.4	33.8
7	6.2	12.3	18.5	24.6	30.8	39.4
8	7.0	14.1	21.1	28.2	35.2	45.0
9	7.9	15.8	23.8	31.7	39.6	50.6
10	8.8	17.6	26.4	35.2	44.0	56.3
11	9.7	19.4	29.0	38.7	48.4	61.9
12	10.6	21.1	31.7	42.2	52.8	67.5
13	11.4	22.9	34.3	45.8	57.2	73.1
14	12.3	24.6	37.0	49.3	61.6	78.8
15	13.2	26.4	39.6	52.8	66.0	84.4
16	14.1	28.2	42.2	56.3	70.4	90.0
17	15.0	29.9	44.9	59.8	74.8	95.6
18	15.8	31.7	47.5	63.4	79.2	101.3
19	16.7	33.4	50.2	66.9	83.6	106.9
20	17.6	35.2	52.8	70.4	88.0	112.5
21	18.5	37.0	55.4	73.9	92.4	118.1
22	19.4	38.7	58.1	77.4	96.8	123.8
23	20.2	40.5	60.7	81.0	101.2	129.4
24	21.1	42.2	63.4	84.5	105.6	135.0

程序：Breeze 操作程序

1. 將 QIAGEN Proteinase K、血漿和 Buffer ACL，依據此順序轉移到 50 ml 離心管（未提供）。

設定	A	B	C	D	E
ProtK (μl)	100	200	300	400	500
血漿 (ml)	1	2	3	4	5
ACL (ml)	0.8	1.6	2.4	3.2	4

2. 蓋上蓋子，並透過間歇振盪 5 x 2 秒鐘混合。

確認試管中形成可見的渦流。為了確保有效溶解，必須徹底混合樣本和 Buffer ACL，以產生均勻的溶液。

備註：此時請勿中斷程序。立即進入步驟 3 以開始溶解靜置。

3. 在 56°C (±1°C) 下靜置 15 (±1) 分鐘。
4. 將試管放回實驗室工作台上並轉開蓋子。
5. 將 Buffer ACB 加至試管中的溶胞物。依據步驟 1 的設定選擇體積。

設定	A	B	C	D	E
ACB (ml)	1.8	3.6	5.4	7.2	9

6. 蓋上蓋子，並透過間歇振盪 5 x 2 秒鐘徹底混合。

確認試管中形成可見的渦流。為了確保有效率溶解，必須徹底混合溶胞物和 Buffer ACB，以產生均勻的溶液。

7. 將試管中的溶胞物 – Buffer ACB 混合液，在室溫下靜置 5 (±1) 分鐘。
8. 將 QIAamp Mini 管柱插入 QIAvac 24 Plus 上的 VacConnector（參閱「設置 QIAvac 24 Plus vacuum manifold」，第 17 頁）。將 20 ml 管柱延伸管插入打開的 QIAamp Mini 管柱。確認管柱延伸管確實插入 QIAamp Mini 管柱，以避免樣本滲漏。

備註：保留沖洗試管供步驟 13 的離心乾燥使用。

- 小心將來自步驟 7 的溶胞物放入 QIAamp Mini 管柱的管柱延伸管內。啟動真空幫浦。所有溶胞物已受完全吸引而通過管柱後，關閉真空幫浦並將壓力釋放到 0 mbar。小心移除並棄置管柱延伸管。

請注意，如果樣本溶胞物體積較大（從 5 ml 樣本開始時約 18 ml），可能需要長達 20 分鐘，才能藉由真空吸力通過 QIAamp Mini 膜。

為了快速且方便釋放真空壓力，應使用 Vacuum Regulator（QIAvac Connecting System 的一部分）。

備註：為了避免交叉污染，移除管柱延伸管時，小心不要穿過鄰近的 QIAamp Mini 管柱。

- 將 600 µl Buffer ACW1 加入 QIAamp Mini 管柱。讓管柱的蓋子保持開啟，並打開真空幫浦。所有 Buffer ACW1 皆已受吸引而通過 QIAamp Mini 管柱後，關閉真空幫浦並將壓力釋放到 0 mbar。
- 將 750 µl Buffer ACW2 加入 QIAamp Mini 管柱。讓管柱的蓋子保持開啟，並打開真空幫浦。所有 Buffer ACW2 皆已受吸引而通過 QIAamp Mini 管柱後，關閉真空幫浦並將壓力釋放到 0 mbar。
- 將 750 µl 乙醇 (96 – 100%) 加入 QIAamp Mini 管柱。讓管柱的蓋子保持開啟，並打開真空幫浦。所有乙醇皆已受吸引而通過離心管柱後，關閉真空幫浦並將壓力釋放到 0 mbar。
- 蓋上 QIAamp Mini 管柱的蓋子。將其從真空歧管取下，並棄置 VacConnector。將 QIAamp Mini 管柱放入乾淨的 2 ml 沖洗試管內（步驟 8），並以全速 (20,000 x g; 14,000 rpm) 離心 3 (±0.5) 分鐘。
- 將 QIAamp Mini 管柱放入新的 2 ml 沖洗試管。打開蓋子並將總成在室溫下靜置 3 分鐘，讓膜完全乾燥。
- 將 QIAamp Mini 管柱放入乾淨的 1.5 ml 洗脫試管（隨附），並棄置步驟 14 的 2 ml 沖洗試管。將 20 – 150 µl 的 Buffer AVE 小心地加至 QIAamp Mini 管柱膜的中心。蓋上蓋子並在室溫下靜置 3 (±0.5) 分鐘。

重要提示：確保洗脫 Buffer AVE 與室溫 (15–25°C) 達到平衡。如果少量洗脫 (<50 µl)，洗脫緩衝液必須分注於膜的中心，以便完全洗脫結合的循環游離 DNA。

洗脫體積有彈性，並可依據下游應用的需求調整。

以較少量的 Buffer AVE 洗脫，可獲得較高的 DNA 濃度，但是總產量可能較低。
回收的洗脫液體積，可能較加至 QIAamp Mini 管柱膜的洗脫體積減少多達 5 μ l。

備註：如果預期核酸產量低，建議洗脫時使用低附著試管（未提供）。

16. 在微量離心機中全速 (20,000 x g ; 14,0000 rpm) 離心 1 分鐘以洗脫循環游離 DNA。

傳統操作程序：從 1 – 5 ml 的人類血漿純化循環游離 DNA

此操作程序構成 QIAamp DSP circulating NA Kit 使用手冊第 3 修訂版 (R3) 中的固定操作程序，用於例如 1-5 ml 人類血漿的現有經使用者驗證工作流程。

開始前要點

- 所有離心步驟皆在室溫 (15-25°C) 進行。
- 在各步驟之間關閉真空，以確保在操作程序步驟期間施加一致、均勻的真空。
備註： Vacuum Pump 壓力應介於 -800 到 -900 mbar。
- 讓樣本與室溫達到平衡。
- 使用磷酸鹽緩衝食鹽水，讓樣本體積盡量接近精確體積 (1 ml 到 5 ml)。
- 依據第 17 頁所述設置 QIAvac 24 Plus。
- 將水浴槽或加熱塊加熱到 60°C，供步驟 3 的 50 ml 離心管使用。
- 將加熱塊加熱到 56°C，供步驟 14 的 2 ml 沖洗試管使用。
- 使用前讓 QIAamp Mini 離心管柱與室溫達到平衡至少 1 小時。
- 確認已依據第 21 頁的說明製備 Buffer ACB、Buffer ACW1 和 Buffer ACW2 (添加異丙醇或乙醇)。
- 依據表 3 中的說明，將以 Buffer AVE 配製的載體 RNA 加至 Buffer ACL。

表 3：處理 1 – 5 ml 人類血漿樣本所需的 Buffer ACL 和載體 RNA（溶於 Buffer AVE）體積

設定血漿量 (ml)	A	B	C	D	E	Buffer AVE 中的 載體 RNA (µl)
	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml	
樣本數量	Buffer ACL (ml)					
1	0.9	1.8	2.6	3.5	4.4	5.6
2	1.8	3.5	5.3	7.0	8.8	11.3
3	2.6	5.3	7.9	10.6	13.2	16.9
4	3.5	7.0	10.6	14.1	17.6	22.5
5	4.4	8.8	13.2	17.6	22.0	28.1
6	5.3	10.6	15.8	21.1	26.4	33.8
7	6.2	12.3	18.5	24.6	30.8	39.4
8	7.0	14.1	21.1	28.2	35.2	45.0
9	7.9	15.8	23.8	31.7	39.6	50.6
10	8.8	17.6	26.4	35.2	44.0	56.3
11	9.7	19.4	29.0	38.7	48.4	61.9
12	10.6	21.1	31.7	42.2	52.8	67.5
13	11.4	22.9	34.3	45.8	57.2	73.1
14	12.3	24.6	37.0	49.3	61.6	78.8
15	13.2	26.4	39.6	52.8	66.0	84.4
16	14.1	28.2	42.2	56.3	70.4	90.0
17	15.0	29.9	44.9	59.8	74.8	95.6
18	15.8	31.7	47.5	63.4	79.2	101.3
19	16.7	33.4	50.2	66.9	83.6	106.9
20	17.6	35.2	52.8	70.4	88.0	112.5
21	18.5	37.0	55.4	73.9	92.4	118.1
22	19.4	38.7	58.1	77.4	96.8	123.8
23	20.2	40.5	60.7	81.0	101.2	129.4
24	21.1	42.2	63.4	84.5	105.6	135.0

程序：傳統操作程序

1. 將 QIAGEN Proteinase K、血漿和 Buffer ACL，依據此順序轉移到 50 ml 離心管（未提供）。

設定	A	B	C	D	E
ProtK (μl)	100	200	300	400	500
血漿 (ml)	1	2	3	4	5
ACL (ml)	0.8	1.6	2.4	3.2	4

2. 蓋上蓋子並透過間歇振盪 30 秒鐘。

確認試管中形成可見的渦流。為了確保有效溶解，必須徹底混合樣本和 Buffer ACL，以產生均勻的溶液。

備註：此時請勿中斷程序。立即進入步驟 3 以開始溶解靜置。

3. 在 60°C (±1°C) 下靜置 30 (±2) 分鐘。
4. 將試管放回實驗室工作台上並轉開蓋子。
5. 將 Buffer ACB 加至試管中的溶胞物。依據步驟 1 的設定選擇體積。

設定	A	B	C	D	E
ACB (ml)	1.8	3.6	5.4	7.2	9

6. 蓋上蓋子，並透過間歇振盪 30 秒鐘徹底混合。

確認試管中形成可見的渦流。為了確保有效率溶解，必須徹底混合溶胞物和 Buffer ACB，以產生均勻的溶液。

7. 將試管中的溶胞物 – Buffer ACB 混合液，在冰上靜置 5 (±1) 分鐘。
8. 將 QIAamp Mini 管柱插入 QIAvac 24 Plus 上的 VacConnector（參閱「設置 QIAvac 24 Plus vacuum manifold」，第 17 頁）。將 20 ml 管柱延伸管插入打開的 QIAamp Mini 管柱。確認管柱延伸管確實插入 QIAamp Mini 管柱，以避免樣本滲漏。

備註：保留沖洗試管供步驟 13 的離心乾燥使用。

- 小心將來自步驟 7 的溶胞物放入 QIAamp Mini 管柱的管柱延伸管內。開啟真空幫浦，施加 -800 到 -900 mbar 的壓力。所有溶胞物已受完全吸引而通過管柱後，關閉真空幫浦並將壓力釋放到 0 mbar。小心移除並棄置管柱延伸管。

請注意，如果樣本溶胞物體積較大（從 5 ml 樣本開始時約 18 ml），可能需要長達 20 分鐘，才能藉由真空吸力通過 QIAamp Mini 膜。

為了快速且方便釋放真空壓力，應使用 Vacuum Regulator（QIAvac Connecting System 的一部分）。

備註：為了避免交叉污染，移除管柱延伸管時，小心不要穿過鄰近的 QIAamp Mini 管柱。

- 將 600 µl Buffer ACW1 加入 QIAamp Mini 管柱。讓管柱的蓋子保持開啟，並打開真空幫浦。所有 Buffer ACW1 皆已受吸引而通過 QIAamp Mini 管柱後，關閉真空幫浦並將壓力釋放到 0 mbar。
- 將 750 µl Buffer ACW2 加入 QIAamp Mini 管柱。讓管柱的蓋子保持開啟，並打開真空幫浦。所有 Buffer ACW2 皆已受吸引而通過 QIAamp Mini 管柱後，關閉真空幫浦並將壓力釋放到 0 mbar。
- 將 750 µl 乙醇 (96 - 100%) 加入 QIAamp Mini 管柱。讓管柱的蓋子保持開啟，並打開真空幫浦。所有乙醇皆已受吸引而通過離心管柱後，關閉真空幫浦並將壓力釋放到 0 mbar。
- 蓋上 QIAamp Mini 管柱的蓋子。將其從真空歧管取下，並棄置 VacConnector。將 QIAamp Mini 管柱放入乾淨的 2 ml 沖洗試管內（步驟 8），並以全速 (20,000 x g; 14,000 rpm) 離心 3 (±0.5) 分鐘。
- 將 QIAamp Mini 管柱放入新的 2 ml 沖洗試管。打開蓋子並將總成在 56°C (±1°C) 下靜置 10 (±1) 分鐘，讓膜完全乾燥。
- 將 QIAamp Mini 管柱放入乾淨的 1.5 ml 洗脫試管（隨附），並棄置步驟 13 的 2 ml 沖洗試管。將 20 - 150 µl 的 Buffer AVE 小心地加至 QIAamp Mini 管柱膜的中心。蓋上蓋子並在室溫下靜置 3 (±0.5) 分鐘。

重要提示：確保洗脫 Buffer AVE 與室溫 (15-25°C) 達到平衡。如果少量洗脫 (<50 µl)，洗脫緩衝液必須分注於膜的中心，以便完全洗脫結合的循環游離 DNA。

洗脫體積有彈性，並可依據下游應用的需求調整。

以較少量的 Buffer AVE 洗脫，可獲得較高的 DNA 濃度，但是總產量可能較低。

回收的洗脫液體積，可能較加至 QIAamp Mini 管柱的洗脫體積減少多達 5 µl。

備註：如果預期循環游離 DNA 產量較低，建議洗脫時使用低附著試管（未提供）。

16. 在微量離心機中全速 (20,000 x g ; 14,0000 rpm) 離心 1 分鐘以洗脫循環游離 DNA。

品質控制

依照 QIAGEN 的 ISO 認證品質管制系統，每批 QIAamp DSP Circulating NA Kit 已針對預定品質標準進行了檢測，以確保產品品質一致。

限制

已使用從下列血液收集管產生的人類血漿樣本，確立分離循環游離 DNA 的系統效能：

- K2-EDTA (Beckton Dickinson, 產品編號 367525)
- PAXgene Blood ccfDNA Tube (PreAnlytiX, 產品編號 768115)
- Cell-Free DNA BCT (Streck, 產品編號 218962)

使用者實驗室中超出 QIAGEN 效能研究範圍的任何程序，應自行負責進行系統效能驗證。

為了將對於診斷結果的負面影響風險最小化，應該對下游應用進行足夠的控制。為了進一步驗證，建議遵循國際醫藥法規協會技術要求 (ICH) 的《ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Test and Methodology》(ICH Q2 (R1) 分析程序驗證：檢測與方法) 中所列的準則。

產生的任何診斷結果必須結合其他臨床或實驗結論來讀解。

參考資料

1. Levy, B. (2019) *Prenatal Diagnosis*. Methods in Molecular Biology. 2nd ed. New York: Humana Press.
2. Hahn, S. and Zimmermann, B.G. (2010) Cell-free DNA in maternal plasma: has the size-distribution puzzle been solved? Clin Chem. **56**, 1210-1211.
3. Babayan, A. and Pantel, K. (2018) Advances in liquid biopsy approaches for early detection and monitoring of cancer. Genome Med **10**, 21.

疑難排解指南

本疑難排解指南可能有助於解決所有發生的問題。聯絡資訊請參閱封底或 www.qiagen.com。

意見和建議

洗脫液中循環游離 DNA 很少或完全沒有

- | | | |
|----|--------------------------------------|---|
| a) | 使用未穩定處理的血漿 | 未穩定處理的血漿樣本可能導致 DNA 加速降解。建議遵循 CEN/TS 16835-3:2015。以新樣本重複純化程序。 |
| b) | 抽血和血漿製備之間間隔時間過長 | 有核血球可能會分解並將基因體 DNA 釋出到血漿中，稀釋目標循環游離 DNA。 |
| c) | 樣本冷凍和解凍超過一次 | 應避免重複冷凍和解凍，因為這可能會導致 DNA 降解。務必使用新鮮樣本或僅解凍一次的樣本。 |
| d) | 樣本中的目標 DNA 濃度低 | 血漿樣本留置在室溫下的時間太長。以新樣本重複純化程序
備註： 部分個體血漿中的游離酸濃度可能很低；在這個情況下，應選擇較大樣本體積和低洗脫液體積。 |
| e) | Buffer ACL 中的樣本溶解不足 | 如果 QIAGEN Proteinase K 曾長時間承受高溫，有可能會失去活性。使用新樣本和新鮮的 QIAGEN Proteinase K 重複程序。 |
| f) | Buffer ACL - 載體 RNA 混合物的混合不足 | 透過輕輕翻轉 Buffer ACL - 載體 RNA 試管至少 10 次，以混合 Buffer ACL 和載體 RNA。 |
| g) | 使用低濃度而非 96 - 100% 乙醇 | 以新樣本和 96 - 100% 乙醇重複純化程序。不要使用含有甲醇或甲基乙基酮等其他物質的變性乙醇。 |
| h) | 未正確製備 Buffer ACB | 檢查是否以正確體積的異丙醇（而非乙醇，參閱第 21 頁）配製 Buffer ACB 濃縮液。 |
| i) | 未正確製備 Buffer ACW1 或 Buffer ACW2 | 檢查是否以正確體積的乙醇（參閱第 21 頁）稀釋 Buffer ACW1 和 Buffer ACW2 濃縮液。以新樣本重複純化程序。 |
| j) | 以 70% 乙醇製備 Buffer ACW1 或 Buffer ACW2 | 檢查是否以 96 - 100% 乙醇（參閱第 21 頁）稀釋 Buffer ACW1 和 Buffer ACW2 濃縮液。以新樣本重複純化程序。 |

DNA 在下游酵素反應中的表現不佳

- | | | |
|----|-------------------|--|
| a) | 洗脫液中 DNA 很少或無 DNA | 參見前面的「洗脫液中 DNA 很少或無 DNA」以找出可能的原因。如果可能，增加添加至反應中的洗脫液量。 |
| b) | 使用的洗脫體積不適當 | 決定下游應用適合的最大洗脫液體積。視情況減少或增加添加至下游應用的洗脫液體積。洗脫體積可依據比例調整。
備註： 以較少量的 Buffer AVE 洗脫，可獲得較高的 DNA 濃度，但是總產量可能較低。 |
| c) | 緩衝液並未徹底混合 | 清洗 Buffer ACW2 的鹽和乙醇成分，可能因為在運行之間長時間靜置而分離。每次運行之前務必徹底混合緩衝液。 |
| d) | 由於載體 RNA 而產生干擾 | 如果洗脫液中存在的載體 RNA 干擾下游酵素反應，可能需要減少載體 RNA 數量，或者完全不要使用。 |

意見和建議








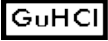

一般處理

- a) QIAamp Mini 管柱堵塞
- 如果流速降低，真空時間可能會延長。
- 或者可以關閉 VacValve（若使用），然後從 QIAamp Mini 管柱小心移除管柱延伸管 - VacConnector - VacValve 總成，而不要流失管柱延伸管內的任何溶胞物。
- 從真空歧管取下 QIAamp Mini 管柱，將其放入 2 ml 沖洗試管，並以全速離心直到樣本完全通過膜為止。重新放回含剩餘溶胞物的管柱延伸管 - VacConnector - VacValve 總成。開啟真空幫浦，開啟 VacValve，並繼續裝載剩餘的溶胞物。
- 如果 QIAamp Mini 管柱仍然堵塞，請重複上述程序。
- 由於重複冷凍和解凍，血漿中可能會形成冷凍沉澱物。這些可能會堵住 QIAamp Mini 管柱。請勿使用已經冷凍和解凍超過一次的血漿。
- 如果可看到冷凍沉澱物，可在 16,000 x g 下離心 5 分鐘以澄清樣本。
- b) 洗脫體積變動
- 不同的樣本可能會影響最終洗脫液的體積。回收的洗脫液體積，可能較加至 QIAamp Mini 管柱的洗脫體積減少多達 5 µl。
- c) 未達到 -800 至 -900 mbar 的真空壓
- 真空歧管未緊密閉合。真空開啟後，將真空歧管的蓋子向下壓。檢查是否達到真空壓力。
- QIAvac 蓋子的墊片已磨損。以目視檢查歧管密封，必要時更換。
- VacValves 已磨損。移除所有 VacValves，並將 VacConnectors 直接插入快速接頭延伸管。將 QIAamp Mini 管柱插入 VacConnectors，蓋上管柱的蓋子，並開啟真空。檢查是否達到真空壓力。必要時更換 VacValves。
- 至真空幫浦的連接漏氣。以快速接頭蓋閉合所有快速接頭延伸管，並開啟真空幫浦。幫浦開啟後（且 Vacuum Regulator 閥關閉時），檢查真空壓力是否穩定。必要時交換幫浦和真空歧管之間的連接。
- 如果仍然未能達到真空壓力，將真空幫浦更換為更強力的幫浦。

符號

使用說明或包裝及標籤上，可能會出現以下符號：

符號	符號定義
	含有足夠進行 <N> 次測試的試劑
	用於
	體外診斷醫療器材
	到達時
	送達即開啟，將 QIAamp Mini Spin 管柱儲放於 2 – 8°C
	產品編號
	數量
	批號
	材料編號（即，元件標籤）
	成分
	體積
	內含物
	加入
	溫度限制

符號	符號定義
	製造商
	參閱使用說明
	將乙醇加入瓶內後，請標註當日日期
	乙醇
	將異丙醇加入瓶內後，請標註當日日期
	異丙醇
	內含物
	導致
	硫氰酸胍
	鹽酸胍
	BRIJ 58
	全球交易品項識別代碼

聯絡資訊

有關技術協助和更多資訊，請瀏覽我們的技術支援中心（www.qiagen.com/Support）、撥打 00800-22-44-6000 或者聯絡 QIAGEN 技術服務部門或當地的經銷商（見封底或瀏覽 www.qiagen.com）。

附錄 A：血漿分離和儲存建議

對於穩定處理的收集管（例如，PAXgene ccfDNA 試管或 Streck Cell-Free DNA 試管），請遵循製造商的血漿分離和儲存說明。建議配合特定下游應用與目標，以驗證這些儲存條件。

對於未穩定處理的 BCT，建議遵循 CEN/TS 16835-3:2015。

為了從血液樣本分離循環游離 DNA，建議遵循此操作程序，其中包括高 g 力離心步驟以去除細胞碎屑，進而減少樣本中的細胞 DNA 數量。

1. 將 EDTA 全血放入 BD Vacutainer® 試管（或含 EDTA 作為抗凝劑的其他初級收集管），置入冷卻至 4°C 且配備水平轉子和適當吊桶的離心機。
2. 在 1900 x g (3000 rpm) 及 4°C 下，將血液樣本離心 10 分鐘。
3. 小心抽吸血漿上清液，而不要擾動血漿-細胞界面層。從一個 10 ml 初級收集管，可取得約 4 – 5 ml 血漿。

備註：血漿可在此階段用於循環游離 DNA 萃取。不過下列高速離心將去除額外細胞碎屑，和破損有核血球的核酸，對循環游離 DNA 造成的污染。

4. 抽吸的血漿會轉移到新鮮的離心管內。
5. 在 16,000 x g（固定角度轉子中）和 4°C 下，將血漿樣本離心 10 分鐘。
這會去除黏附在細胞碎屑上的其他細胞核酸。
6. 小心移除上清液並轉移到新試管，而不要擾動團塊。
7. 如果會在同一天將血漿用於循環游離 DNA 萃取，存放在 2 – 8°C 直到進一步處理為止。長期儲存時，來自穩定處理及未穩定處理收集管的血漿等分，可在 -30 至 -15°C 或 -90 至 -65°C 下儲存至少 4 週。使用血漿進行循環游離 DNA 萃取之前，在室溫下解凍血漿試管。
8. **選擇性：**為了去除冷凍沉澱物，在 16,000 x g（固定角度轉子中）下，將血漿樣本離心 5 分鐘。

選擇性：轉移上清液到新試管，然後開始循環游離 DNA 萃取操作程序。

訂購資訊

產品	目錄	產品編號
QIAamp DSP Circulating NA Kit (50)	50 次製備：QIAamp Mini 管柱、管柱延伸管、VacConnectors、QIAGEN Proteinase K、試劑、緩衝液和收集管	61504
配件		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold*	用於處理 1 – 24 個離心管柱的真空歧管：QIAvac 24 Plus Vacuum manifold、快速接頭栓和快速聯結管	19413
Vacuum Pump*	通用真空幫浦	84010 [美國和加拿大] 84000 [日本] 84020 [世界其他地區]
QIAvac Connecting System*	連接真空歧管與真空幫浦的系統：包括托盤、廢液瓶、管路、聯結管、閥門、壓力計和 24 個 VacValves	19419

* 適用於真空操作程序。

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 下載，或向 QIAGEN 技術服務部或您當地經銷商索取。

文件修訂歷程記錄

日期	變更
R1, 11/2021	首次發佈

QIAamp DSP Circulating NA Kit 的有限授權合約

使用本產品表示產品的購買者或使用者同意以下條款：

1. 本產品僅可根據產品提供的操作程序和本使用手冊，與試劑組中包含的元件搭配使用。除了本產品隨附的操作程序、本使用手冊以及 www.qiagen.com 中提供的額外操作程序所述情況外，QIAGEN 並未在其任何智慧財產授權中允許將本產品所含成分與非本產品所含成分搭配使用或相互整合。這些其他操作程序有些是由 QIAGEN 使用者為其他使用者提供的。這些操作程序未經 QIAGEN 全面測試或優化。QIAGEN 既不擔保也不保證這些操作程序不會侵犯第三方的權利。
2. 除了特別聲明的許可外，QIAGEN 不保證本試劑組和/或其使用不會侵犯第三方的權利。
3. 本試劑組及其元件僅供一次使用，不得重複使用、翻新或再銷售。
4. 除了特別聲明的許可外，QIAGEN 明確否認全部明示或暗示的任何其他許可。
5. 本試劑組的購買者和使用者同意不會採取，或允許他人採取可導致或促成以上所禁止行為的任何措施。QIAGEN 可在任何法院申請強制執行此有限許可協定的禁止事項，並應取得在強制執行此有限許可協定，或本試劑組和/或其元件相關的任何智慧財產權的任何行動過程中，所產生的所有調查和訴訟費用，包括律師費。

更新版授權條款請瀏覽 www.qiagen.com。

商標：QIAGEN®、Sample to Insight®、QIAamp® (QIAGEN Group)；BD Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company)；Tween® (ICI Americas Inc.)。即使未特別標明，本文中使用的註冊名稱、商標等也不應視為不受法律保護。

1126619 11/2021 HB-0466-TW-002 © 2021 QIAGEN，保留所有權利。

