2017 年 9 月

ipsogen® JAK2 RGQ PCR Kit 手冊

Σ 24

可供與 Rotor-Gene® Q MDx 5plex HRM 儀器搭配使用

版本 1

定量體外診斷

IVD

CE

REF 673623

1107956

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 德國

R5 MAT 1107956TW

Sample to Insight

QIAGEN

目錄

適用範圍 4

摘要與說明 4

程序原理 6

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 12

一般注意事項 12

試劑儲存與處理 14

運輸條件 14

儲存條件 14

穩定性 14

檢體處理與儲存 15

程序 15

從全血提取和製備基因組 DNA 15

DNA 鑒定和量化 20

基因組 DNA 樣本歸一化 20

方案：在 Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM 儀器上執行 qPCR 22

結果判讀 30

疑難排解指南 34

品質控制 36

限制 36

效能特性 37

空白極限 37

檢測極限 37

線性 37

重複性和再現性 38

干擾物質 38

臨床驗證和方法比較 38

參考資料 40
符號 41
聯絡資訊 42
訂購資訊 43

適用範圍

Ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit 是一種體外定量測試，專用於檢測從全血中提取的基因組 DNA 中的 JAK2 V617F/G1849T 等位基因。該測試專用於輔助診斷與其他臨床病理因素有關的骨髓增生性腫瘤 (MyeloProliferative Neoplasm, MPN)。

摘要與說明

在 2005 (1 – 4) 中發現了一種影響 Janus 酪氨酸激酶 2 (JAK2) 基因的復發性體細胞突變 V617F，從而引領了 MPN 了解、分類和診斷領域的重大突破。JAK2 是包括紅細胞生成素在內的多種細胞激素的關鍵胞內訊號分子。

在超過 95% 的真性紅細胞增多症 (Polycythemia Vera, PV) 病患、50 – 60% 的原發性血小板增多症 (Essential Thrombocythemia, ET) 病患以及 50% 的原發性骨髓纖維化 (Primary MyeloFibrosis, PMF) 病患體內檢測到了 JAK2 V617F 突變。在某些罕見的慢性粒單核細胞白血病、骨髓增生異常綜合征 (MyeloDysplastic Syndrome, MDS)、系統性肥大細胞增生症和慢性中性粒細胞白血病病例中同樣檢測到 JAK2 V617F，但在慢性粒細胞白血病 (Chronic Myeloid Leukemia, CML) (5) 中的檢出率為 0%。

該突變對應的是外顯子 14 中 JAK2 核苷酸 1849 的單核苷酸變化，從而造成蛋白質（JH2 域）位置 617 的唯一纈氨酸 (V) 至苯基丙氨酸取代 (F)。該突變造成所有 PV 病患和大部分 ET 和 PMF 病患 (6) 出現 JAK2 組成性啟動、體外造血轉換和紅細胞生成素無關性紅系集落 (Erythropoietin-independent Erythroid Colony, EEC) 增生。JAK2 V617F 代表了 MPN 中造血細胞轉變的關鍵驅動因素，但導致如此殊異臨床和生物性本質的同一唯一突變的確切病理學機制尚未得到全面闡明。

以往，MPN 的診斷依據是臨床骨髓細胞組織和細胞遺傳學標準。疾病特異性分子標記的發現既簡化了流程，又提高了診斷準確性。JAK2 V617F 突變檢測現已成為世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) 2008 的 BCR-ABL 陰性 MPN 診斷參考標準（見下頁表 1），該突變的存在是一項主要確診標準。

表 1。WHO MPN 診斷標準（摘自參考標準 7）

PV 診斷標準	
主要	1.血紅蛋白 (Hgb) >18.5 g.dl^{-1}（男性）或 >16.5 g.dl^{-1}（女性）或者 Hgb 或紅細胞比容 > 年齡、性別或居住地海拔高度參考範圍的 99%；或 Hgb >17 g.dl^{-1}（男性）或 >15 g.dl^{-1}（女性），前提是與從基線持續增加 ⩾2 g.dl^{-1} 有關，並且無法歸因於鐵缺乏症矯治；或 升高紅細胞量比正常平均預測值高 25% 以上 2.存在 *JAK2V617F* 或類似突變
次要	1.骨髓三線性增生 2.血清促紅細胞生成素低於正常水平 3.EEC 增生
ET 診斷標準	
主要	1.血小板計數 ⩾450 x 10^{9} l^{-1} 2.具有大型和成熟形態的巨核細胞增生。 沒有或極少粒細胞或紅系增生 3.不符合 WHO 的 CML、PV、PMF、MDS 或其他髓系腫瘤診斷標準 4.證明存在 *JAK2V617F* 或其他克隆標記，或 無反應性凝血細胞增多證據
次要	–
PMF 診斷標準	
主要	1.巨核細胞增生和異型性，並伴有網狀蛋白和/或膠原纖維化；或 不存在網狀蛋白纖維化時，巨核細胞改變必定會伴有骨髓細胞質增加、粒細胞增生和經常性紅細胞生成減少（即前纖維化 PMF） 2.不符合 WHO 的 CML、PV、MDS 或其他髓系腫瘤診斷標準 3.證明存在 *JAK2V617F* 或其他克隆標記，或 無反應性骨髓纖維化證據
次要	1.成白紅細胞增多症 2.血清乳酸脫氫酶增加 3.貧血 4.可觸知脾腫大

CML：CML：慢性粒細胞白血病；EEC：自發性紅系群落；ET：原發性血小板增多症；Hgb：血紅蛋白；MDS：骨髓增生異常綜合征；PMF：原發性骨髓纖維化；PV：真性紅細胞增多症；WHO：世界衛生組織。

2006 年以來，出現了幾種本質上基於 PCR 技術或測序的方法，這些方法作為實驗室開發的測試來檢測 JAK2V617F 的存在並潛在對其定量。這些測試具有不同的分析效能，尤其是在精確度和靈敏度方面。這種差異可能影響骨髓分析的必要性、最終確診所需的時間並會潛在影響診斷效能。

程序原理

已計畫採取幾種不同方法來定量確定 DNA 樣本中的單核苷酸多態性 (Single Nucleotide Polymorphism, SNP)。某些方法（例如熔解曲線法和測序法）只是半定量方法。基於即時定量聚合酶鏈式反應 (Quantitative Polymerase Chain Reaction, qPCR) 的方法因其靈敏度更高，而被優先採用。SNP 特異性引物的使用使得可以選擇性地擴增突變型 (Mutant, MT) 或野生型 (Wild-Type, WT) 等位基因，從而方便地使用即時 qPCR 儀器進行檢測。這可使靈敏度 <0.1%，這符合目前公認用於表示臨床陽性的 JAK2 截止值 1%。不過，應注意的是，一些臨床專家將任何 JAK2 負載的存在均視為具有臨床診斷意義，因此有必要採用靈敏的方法，例如 qPCR (8)。*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 就是基於這一方法。

採用 qPCR 可以在 PCR 擴增過程的指數期對 PCR 產物進行準確量化。可透過在 PCR 循環期間和/或之後即時檢測螢光訊號，不必進行 PCR 後處理便可快速獲得定量 PCR 資料，從而顯著降低 PCR 產物污染風險。目前，主要有三種 qPCR 方法可供採用：使用 SYBR® Green I Dye 的 qPCR 分析法、使用水解探針的 qPCR 分析法以及使用雜交探針的 qPCR 分析法。

本檢測利用了 qPCR 寡核苷酸水解原理。在 PCR 期間，正向和反向引物雜交到特定序列。同一混合物中包含了另一種染料關聯寡核苷酸。此探針由使用 5’ 螢光報告基團標示的寡核苷酸和下游的 3’ 無染料猝滅基團組成，雜交至 PCR 產物內的目標序列。使用水解探針的 qPCR 分析法利用*棲熱水生菌* (*Taq*) DNA 聚合酶的 5’→3' 外切酶活性。當探針完好時，螢光報告基團接近猝滅基團會造成對主要透過 Förster 式能量轉移產生的報告螢光的抑制。

在 PCR 期間，如果存在關注的目標，正向和反向引物均會明確黏合並將探針夾在中間。DNA 聚合酶的 5’→3’ 外切酶活性只有在三個寡核苷酸雜交至目標時才會將螢光報告基團與猝滅基團之間的探針分裂。然後從目標置換探針碎片，並繼續進行鏈的聚合。探針的 3’ 端已封堵，以防止探針在 PCR 期間伸長（見下頁圖 1）。每個循環均會發生此過程，不會干擾產物的指數累積。

僅在目標序列是作為引物和探針的補充，並因此在 PCR 期間擴增時，才會檢測到螢光訊號的增加。由於這些要求的緣故，不會檢測到非特異性擴增。因此，螢光的增加與 PCR 期間的目標擴增成正比。

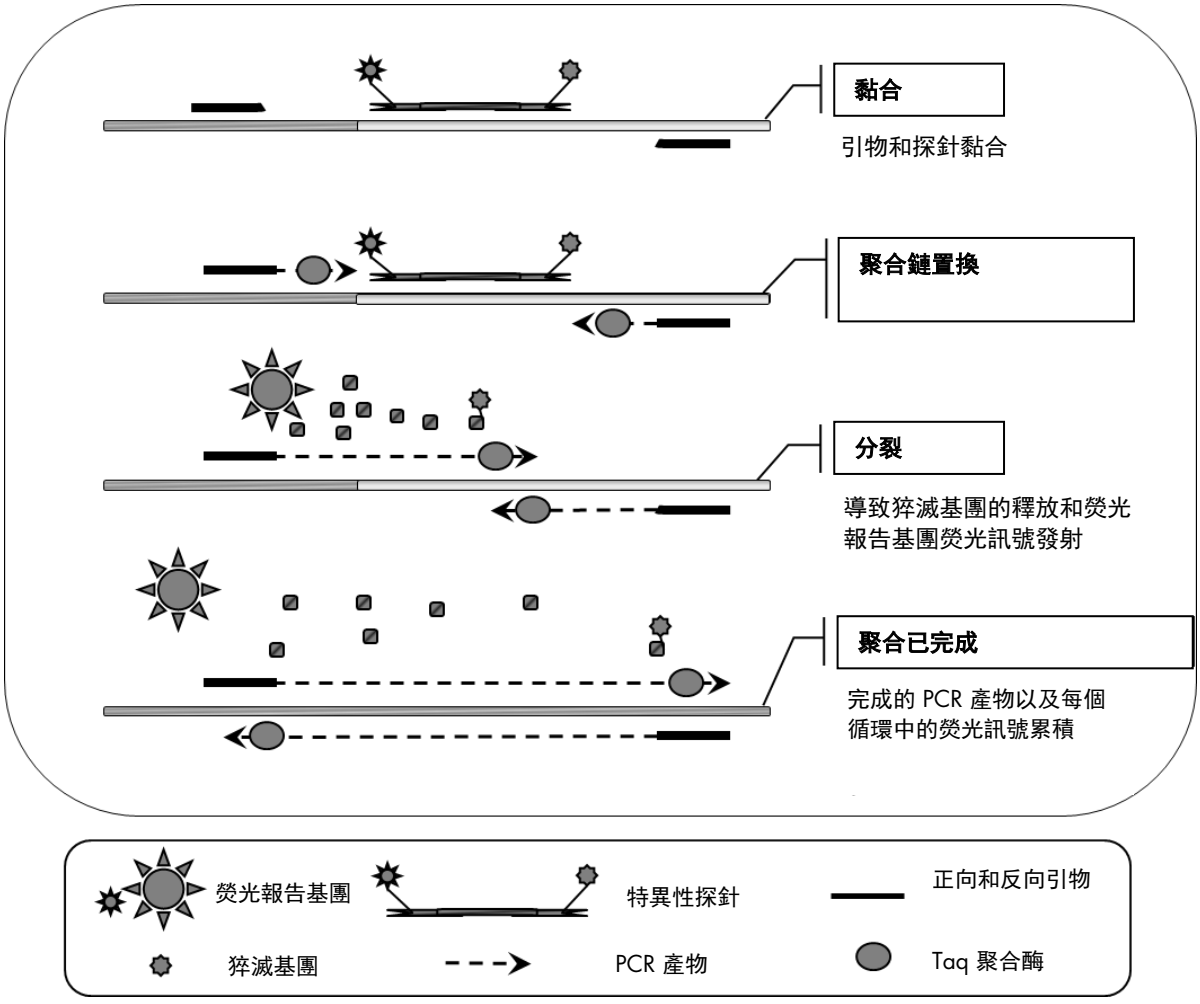


圖 1。反應原理。此檢測試劑組中採用的定量等位基因特異性 PCR 技術可以靈敏、準確和可重複性高的方式檢測 SNP。此方法基於使用適用於野生型和 V617F 等位基因 (8) 的特異性反向引物。只有引物與目標 DNA 完全匹配，才能在 PCR 中進行擴展和擴增（圖 2）。

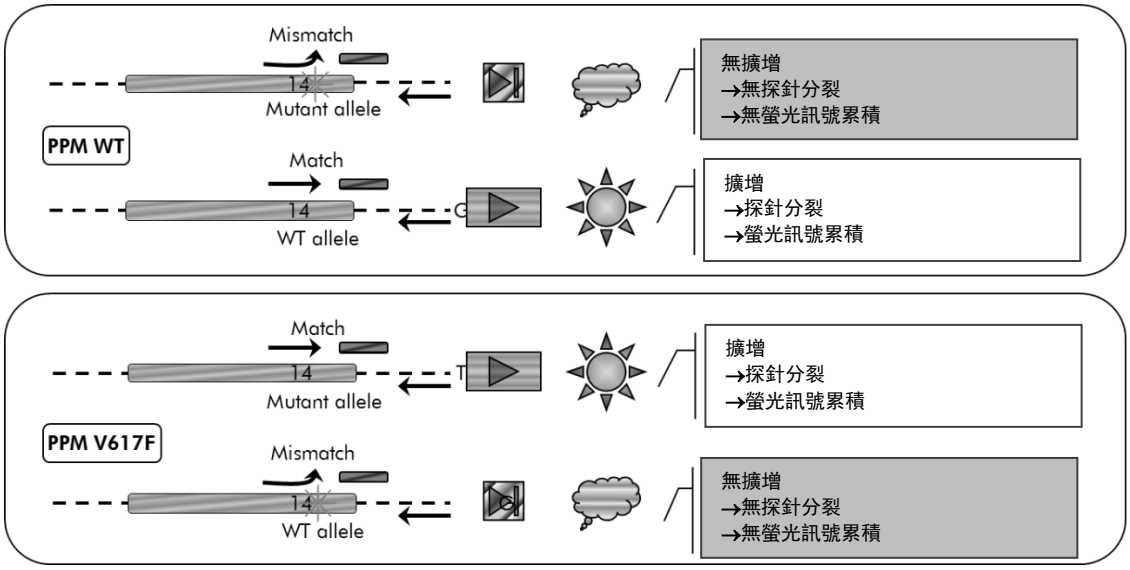


圖 2。 等位基因特異性 PCR。使用野生型或 V617F 引物和探針組合可以透過兩個使用相同樣本進行的獨立反應對野生型或突變型等位基因進行特異性檢測。結果可以表示為 VF 複本數占 JAK2 總複本數的百分比。

提供的材料

試劑組內容物

***ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (24)**		
目錄編號		**673623**
反應次數		**24**
JAK2 Mutant Control（JAK2 突變型對照劑）（100% V617F 等位基因）	紅色	33 µl
JAK2 WT Control（JAK2 WT 對照劑）（100% 野生型等位基因）	綠色	33 µl
JAK2 MT Quant Standard 1（JAK2 MT 定量標準樣 1）（5 x 10^1 V617F 複本/5 µl）	紅色	20 µl
JAK2 MT Quant Standard 2（JAK2 MT 定量標準樣 2）（5 x 10^2 V617F 複本/5 µl）	紅色	20 µl
JAK2 MT Quant Standard 3（JAK2 MT 定量標準樣 3）（5 x 10^3 V617F 複本/5 µl）	紅色	20 µl
JAK2 MT Quant Standard 4（JAK2 MT 定量標準樣 4）（5 x 10^4 V617F 複本/5 µl）	紅色	20 µl
JAK2 WT Quant Standard 1（JAK2 WT 定量標準樣 1）（5 x 10^1 野生型複本/5 µl）	綠色	20 µl
JAK2 WT Quant Standard 2（JAK2 WT 定量標準樣 2）（5 x 10^2 野生型複本/5 µl）	綠色	20 µl
JAK2 WT Quant Standard 3（JAK2 WT 定量標準樣 3）（5 x 10^3 野生型複本/5 µl）	綠色	20 µl
JAK2 WT Quant Standard 4（JAK2 WT 定量標準樣 4）（5 x 10^4 野生型複本/5 µl）	綠色	20 µl
JAK2 MT Reaction Mix（JAK2 MT 反應混合液）*	紅色	1010 µl
JAK2 WT Reaction Mix（JAK2 WT 反應混合液）†	綠色	1010 µl
Taq DNA polymerase（Taq DNA 聚合酶）（HotStarTaq® 5 單位/µl）	薄荷色	85 µl
TE buffer for sample dilution（TE 樣本稀釋緩衝液）	白色	1.9 ml
Water for no template control (NTC)（無模板控制 [No Template Control, NTC] 用水）	白色	1.9 ml
ipsogen *JAK2 RGQ PCR Kit 手冊*（英文）		1

* PCR 混合液，包含除 Taq DNA 聚合酶和 MT 等位基因目標 DNA 之外的所有必需成分。

† PCR 混合液，包含除 Taq DNA 聚合酶和 WT 等位基因目標 DNA 之外的所有必需成分。

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、拋棄式手套和防護眼鏡。如需了解更多資訊，請參閱相應的安全資料表 (SDS)，其可從產品供應商處獲得。

適用於人工 DNA 提取的消耗品與試劑

- QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit（目錄編號 61104）
- 乙醇 (96-100%)

  注意：不要使用變性乙醇，因為其含有甲醇或甲基乙基酮等其他物質。

適用於自動 DNA 提取的消耗品與試劑

- QIAsymphony® DSP DNA Mini Kit（目錄編號 937236）
- Sample Prep Cartridges, 8-well（目錄編號 997002）
- 8-Rod Covers (目錄編號 997004)
- Filter-Tips, 1500 µl（目錄編號 997024）
- Filter-Tips, 200 µl（目錄編號 990332）
- Elution Microtubes CL（目錄編號 19588）
- Tip disposal bags（目錄編號 9013395）
- Micro tubes 2.0 ml Type H（Sarstedt®，目錄編號 72.694，www.sarstedt.com）

適用於 PCR 的消耗品與試劑

- 帶疏水濾膜過濾器的無核酸酶耐氣溶膠無菌 PCR 移液吸頭
- 1.5 ml 或 2.0 ml 無核酸酶 PCR 試管
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml，適用於 Rotor-Gene Q（目錄編號 981103 或 981106）
- 冰

設備

- 微型移液器（可調式）*，專門用於 PCR（1 – 10 µl；10 – 100 µl；100 – 1000 µl）
- 拋棄式手套
- 振盪混合器

* 確保按照生產商的建議檢查並校正儀器。

- 用於 56° C 下樣本細胞溶解的加熱塊
- 台式離心機*，配備適用於 0.5 ml/1.5/2.0 ml 反應試管的轉子（轉速可達 13,000 – 14,000 rpm）
- 分光光度計

用於自動樣本製備的設備

- QIAsymphony SP 儀器*（目錄編號 9001297），軟體版本 4.0 或更高，提供的配件和 Blood_200_V7_DSP 方案
- Tube Insert 3B（嵌塊，2.0 ml v2，樣本容器 (samplecarr.)(24)，Qsym，目錄編號 9242083）

PCR 用設備

- 即時 PCR 儀器 *：Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM 和提供的配件
- 已安裝 Rotor-Gene AssayManager® v2.1，軟體 2.1.x (x≥0)
- 已安裝 Rotor-Gene AssayManager Gamma Plug-in v1.0.x (x≥0)
- 已匯入 JAK2 CE Assay Profile (ipsogen_JAK2_blood_CE_V1_0_x (X≥0))

* 確保按照生產商的建議檢查並校正儀器。

警告和注意事項

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、拋棄式手套和防護眼鏡。如需了解更多資訊，請參閱相應的安全資料表 (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。

警示	警示：切勿直接在樣本或製備廢液中加入漂白劑或酸溶液。

一般注意事項

使用 RT-PCR 測試需要優良實驗室規範，包括維護專用於分子生物學並符合適用法規和相關標準之設備。

本試劑組專用於體外診斷。本試劑組中提供的試劑和說明經驗證可達最佳效能。

- 測試適用的全血樣本必須使用鉀 EDTA 進行抗凝處理，並在 2 – 8° C 下存放不超過 96 小時，直至 DNA 提取為止。
- 所有化學物質和生物材料都具有潛在的危險性。檢體和樣本具有潛在的感染性，必須作為生物危害材料處理。
- 根據當地安全程序丟棄樣本和檢測廢棄物。
- *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 的試劑已進行優化稀釋。切勿進一步稀釋試劑，否則可能導致效能喪失。
- 請勿使用小於 25 µl 的反應體積（反應混合液加樣本）。
- *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 中提供的所有試劑僅適用於與同一試劑組中提供的其他試劑搭配使用。請勿將一個試劑組中的任何試劑替換為其他 *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 中的同一試劑，即使是同一批次的試劑也不允許，因為這可能會影響效能。
- 請參閱 Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM 儀器使用者手冊和 RGAM 2.1 使用者手冊，了解其他警告、注意事項和程序。
- 改動培養時間和溫度可能導致資料錯誤或不一致。
- 不要使用過期或儲存不當的成分。

- 反應混合液被光照射可能會變性。
- 請格外小心，防止 JAK2 MT 和 JAK2 WT Quant Standards 試劑中包含的合成物質以及 JAK2 MT 和 JAK2 WT Control 試劑污染混合液。
- 請格外小心，防止 DNA 或 PCR 產物夾帶污染導致的假陽性訊號。
- 請格外小心，防止 DNase 污染，這可能導致模板 DNA 退化。
- 使用單獨的專用移液管預備反應混合液和加入模板。
- 運轉完成前請勿打開 Rotor-Gene Q MDx 儀器。
- 運轉完成後請勿打開 Rotor-Gene Q 試管。
- 必須注意確保正確的樣本檢測，重點是消除錯誤樣本進入、裝載錯誤和移液錯誤。
- 確保以系統化方式處理樣本，以確保始終識別正確，從而保持可追溯性。

因此，我們提出以下建議：

- 使用無核酸酶的實驗室用具（例如移液管、移液吸頭、反應瓶）並在執行檢測時戴手套。
- 所有移液步驟均使用新的耐氣溶膠移液吸頭，以避免樣本和試劑交叉污染。
- 使用專用材料（移液器、吸頭等）在未引入 DNA 基質（DNA、質粒或 PCR 產物）的專用區域製備前 PCR 主混合液。使用專用材料（移液器、吸頭等）在單獨區域（最好在單獨房間內）加入模板。

有關提取試劑組 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit（目錄編號 61104）和 QIAsymphony DNA DSP Mini Kit（目錄編號 937236）的安全資訊，請參閱對應的手冊。

試劑儲存與處理

運輸條件

ipsogen JAK2 PGQ PCR Kit 用乾冰運輸。如果 *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit（酶除外）的任何成分到達時未處於冷凍狀態、在運輸過程中外包裝已經打開，或貨物中缺少裝箱單、手冊或試劑，請聯絡其中一個 QIAGEN 公司技術服務部或當地經銷商（見封底或瀏覽 www.qiagen.com）。

儲存條件

ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit 必須在收到後立即置於恆溫冰箱中以 –30° C 至 –15° C 的溫度避光儲存。

有關提取試劑組 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit（目錄編號 61104）和 QIAsymphony DNA DSP Mini Kit（目錄編號 937236）的儲存資訊，請參閱對應的手冊。

穩定性

在規定儲存條件下存放時，*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 保持穩定至箱標籤上規定的失效日期。

打開後，試劑可使用其原始包裝儲存在 –30° C 至 –15 環境中，直至箱標籤上規定的失效日期。應避免反覆凍融。請勿超過最多 5 次凍融。

有關提取試劑組 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit（目錄編號 61104）和 QIAsymphony DNA DSP Mini Kit（目錄編號 937236）的穩定性資訊，請參閱對應的手冊。

- 透過將試管倒置 10 次輕輕混合，並在打開前用離心機分離所有試管（酶除外）。
- 各成分標籤上指示了每個試劑的失效日期。在正確儲存條件下，只要使用同一批次的成分，產品就可在穩定期內保持效能。
- QIAGEN 的品質控制程序分別為每個試劑組批次進行功能試劑組釋放測試。因此，請勿混用不同試劑組的試劑，即使是同一批次的也不允許。

檢體處理與儲存

全血樣本

ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit 與從使用鉀 EDTA 進行抗凝處理並具有下述儲存條件的全血樣本提取的基因組 DNA 樣本配合使用：

- 2 – 8° C 下不超過 96 小時
- 15-25° C 下不超過 96 小時
- – 15° C 至 – 30° C 下冰凍不超過 1 個月

注意：全血樣本的運輸條件必須與儲存條件相同，以避免儲存和運輸期間的溫度變化。

基因組 DNA 樣本

提取基因組 DNA 之後，可在 – 30° C 至 – 15° C 下儲存和運輸樣本不超過 15 個月，可以在提取後直接儲存，或在 TE 緩衝液中稀釋後再儲存。

程序

從全血提取和製備基因組 DNA

應將 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit（目錄編號 61104）或 QIAsymphony SP 儀器與 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit（目錄編號 937236）組合使用來提取基因組 DNA。

確保要使用的試劑尚未失效，並且運輸和儲存條件正確。

注意：*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 只進行過與 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit（目錄編號 61104）或 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit（目錄編號 937236）的組合使用驗證。請勿使用任何其他 DNA 提取產品。

使用 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 手動提取基因組 DNA

必須按照對應的 *QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 手冊* 使用 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit（目錄編號 61104）執行手動基因組 DNA 提取。

開始前需完成的事項

- 將血液樣本平衡到室溫 (15 – 25° C)，並確保已將其充分均質化。

- 製備細胞溶解緩衝液

  如果在 Lysis Buffer (AL) 中形成了沉澱物，透過在 56° C 下培養將其溶解。

- 製備 QIAGEN 蛋白酶

  將 1.2 ml 蛋白酶溶劑 (Protease Solvent, PS) 加入凍幹的 QIAGEN 蛋白酶 (QIAGEN Protease, QP) 並仔細混合。為避免形成泡沫，翻轉藥品數次進行混合。確認 QIAGEN 蛋白酶 (QP) 完全溶解。

  注意：請勿直接將 QP 加入 Lysis Buffer (AL) 中。

- 製備清洗緩衝液 1

  使用量筒取用 25 ml 乙醇 (96-100%) 加入含 19 ml 清 Wash Buffer 1 (AW1) 濃縮液的瓶子中。儲存已製備的 Wash Buffer 1 (AW1) 於室溫 (15-25° C)。

  注意：開始操作流程之前，務必翻轉瓶子數次，混合已製備 Wash Buffer 1 (AW1)。

- 製備清洗緩衝液 2

  使用量筒取用 30 ml 乙醇 (96-100%) 加入含 13 ml Wash Buffer 2 (AW2) 濃縮液的瓶子中。儲存已製備的 Wash Buffer 2 (AW2) 於室溫 (15-25° C)。

  注意：開始操作流程之前，務必翻轉瓶子數次，混合已製備 Wash Buffer 2 (AW2)。

- 準備洗脫緩衝液

  試劑組附帶一瓶 Elution Buffer (AE)。為預防 Elution Buffer (AE) 受到污染，我們強烈建議在從瓶子吸取洗 Elution Buffer (AE) 時使用帶氣溶膠屏障的移液吸頭，並在吸液後立即蓋好瓶蓋。

  將 Elution Buffer (AE) 平衡至室溫 (15 – 25° C)。

- 將加熱塊設定為 56° C 以供步驟 4 使用。

程序

1. 用移液吸管取 20 µl QIAGEN 蛋白酶 (QP) 移至裂解液試管 (lysis tube, LT) 中。

   注意：操作前先檢查已製備蛋白酶的保存期限。

2. 將 200 µl 血液樣本加入裂解液試管 (LT)。
3. 將 200 µl Lysis Buffer (AL) 加入裂解液試管 (LT)，合上蓋子，使用脈衝振蕩混合器混合 15 秒。

   注意：為確保充分裂解，務必將檢體和 Lysis Buffer (AL) 徹底混合均勻，然後產生均質化的溶液。

   注意：由於 Lysis Buffer (AL) 具有高黏性，請小心吸取或使用合適的移液器以確認取用正確體積的 Lysis Buffer (AL)。

   請勿直接將 QIAGEN 蛋白酶 (QP) 加入 Lysis Buffer (AL) 中。

4. 在 56° C (±1° C) 下培養 10 分鐘（±1 分鐘）。
5. 以最高速離心裂解液試管 (LT) 5 秒鐘，移除蓋內的液滴。

6. 將 200 µl 乙醇 (96 – 100%) 加入裂解液試管 (LT)，合上蓋子，使用脈衝振蕩混合器充分混合至少 15 秒。
7. 以最高速離心裂解液試管 (LT) ≥5 秒鐘，移除蓋內的液滴。
8. 小心地將步驟 7 的整個裂解物在不弄濕邊緣的情況下塗到 QIAamp Mini 離心柱。避免讓移液吸頭接觸 QIAamp Mini 離心柱薄膜。

   注意：如果處理多個樣本，則一次只能打開一個裂解管 (LT)。
9. 合上 QIAamp Mini 離心柱的蓋子，然後以大約 6000 x *g* 的速度離心 1 分鐘。將 QIAamp Mini 離心柱放入一個乾淨的清洗試管 (WT) 中，並將含有濾液的試管丟棄。

   注意：如果以 6000 x *g* (8000 rpm) 分離後裂解物未完全穿透薄膜，再次用離心機以全速（最高 20,800 x *g*）分離 1 分鐘。

   注意：如果分離時裂解物仍未穿透薄膜，將樣本丟棄，使用新的樣本材料重複執行隔離和純化。
10. 小心地打開 QIAamp Mini 離心柱，在不弄濕邊緣的情況下加入 500 µl Wash Buffer 1 (AW1)。避免讓移液吸頭接觸 QIAamp Mini 離心柱薄膜。
11. 合上 QIAamp Mini 離心柱的蓋子，用離心機以大約 6000 x *g* (8000 rpm) 的速度分離 1 分鐘。將 QIAamp Mini 離心柱放入一個乾淨的清洗試管 (WT) 中，並將含有濾液的試管丟棄。
12. 小心地打開 QIAamp Mini 離心柱，在不弄濕邊緣的情況下加入 500 µl Wash Buffer 2 (AW2)。避免讓移液吸頭接觸 QIAamp Mini 離心柱薄膜。
13. 合上 QIAamp Mini 離心柱的蓋子，用離心機以全速（大約 20,000 x *g* 或 14,000 rpm）分離 1 分鐘。將 QIAamp Mini 離心柱放入一個乾淨的清洗試管 (WT) 中，並將含有濾液的試管丟棄。
14. 用離心機以全速（大約 20,000 x *g* 或 14,000 rpm）分離 3 分鐘，使薄膜完全乾燥。
15. 將 QIAamp Mini 離心柱放入一個乾淨的洗脫試管 (ET) 中，並丟棄裝有濾液的清洗試管 (WT)。小心地打開 QIAamp Mini 離心柱的蓋子，將 50 – 200 µl Elution Buffer (AE) 塗到薄膜的中心。合上蓋子，在室溫 (15 – 25° C) 下培養 1 分鐘。用離心機以大約 6000 x *g* (8000 rpm) 的速度分離 1 分鐘以洗脫 DNA。
16. 根據當地安全規定丟棄使用過的樣本試管、樣本板和廢液。

使用 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit 自動提取基因組 DNA

必須透過 QIAsymphony 儀器，按照 *QIAsymphony DSP DNA Kit 手冊* 中的說明將樣本製備模組與 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit（目錄編號 937236）組合使用，才能自動執行基因組 DNA 提取。在以下程序中，JAK2 方案特色以 ⚠ 標誌醒目提示。

與 QIAsymphony SP 組合使用時，QIAsymphony DSP DNA Mini Kit 可實現人類全血的自動 DNA 純化（在 QIAsymphony 上使用 Blood_200_V7_DSP 方案）。

- 不需要進行預處理

- 試管直接轉移至 QIAsymphony SP
- 透過磁性粒子執行 DNA 的純化

開始前要點

- 需要提取的全血量為 300 µl。
- 確保您熟悉 QIAsymphony SP 的操作。請參閱儀器隨附使用者手冊中的操作說明。
- 可選維護並非儀器正常工作的強制性要求，但強烈建議執行該維護，以降低污染風險。
- 首次使用試劑盒之前，檢查確認 Buffer QSL1 和 Buffer QSB1 未含有沉澱物。必要時，從試劑盒取下含有 Buffer QSL1 和 Buffer QSB1 的試劑槽，在 37° C 下培養 30 分鐘，並間或搖動，使沉澱物溶解。務必將試劑槽放回正確位置。如果試劑盒已經刺破，務必用重用密封條將試劑槽密封，並在 37° C 下將整個試劑盒培養 30 分鐘，並間或在水浴槽內搖動。
- 儘量避免用力搖動試劑盒 (Reagent Cartridge, RC)，否則可能生成泡沫，進而可能導致液位檢測問題。

開始前需完成的事項

- 開始程序前，確保磁性粒子已完全重懸浮。首次使用前用力振蕩混合含有磁性粒子的試劑槽至少 3 分鐘。
- 確保試劑盒上蓋有穿透蓋，並且磁性粒子試劑槽的蓋子已取下，或者如果使用的是部分用過的試劑盒，確保重用密封條已取下。
- 務必打開酶試管。
- 如果樣本有條形碼，調整樣本在試管容器中的朝向，令條形碼朝向 QIAsymphony SP 左側的條形碼讀取器。

程序

1. 關閉所有抽屜和護罩。
2. 打開 QIAsymphony SP，等到「Sample Preparation」（樣本製備）螢幕出現，初始化程序就已完成。

   注意：電源開關位於 QIAsymphony SP 的左下角。
3. 登入儀器。
4. 確保「Waste」（廢液）抽屜已準備好，並執行對「Waste」（廢液）抽屜（包括吸頭滑槽和廢液容器）的庫存掃描。必要時更換吸頭處理袋。
5. 將所需洗脫架載入「Eluate」（洗脫液）抽屜。

請勿將 96 孔樣本板加載到「Elution slot 4」（洗脫槽 4）上

請僅將「Elution slot 1」（洗脫槽 1）與對應的冷卻配接器配合使用。

使用 96 孔樣本板時，確保樣本板朝向正確，因為位置不正確可能導致下游分析時發生樣本混亂。

6. 將所需試劑盒和消耗品載入「Reagents and Consumables」（試劑和消耗品）抽屜。

   注意：確保正確固定移液吸頭。

7. 執行「Reagents and Consumables」抽屜的庫存掃描。

8. 將待提取的 **300 µl** 全血樣本轉移到一個微管（H 型 2.0 ml），並將微管放入試管樣本容器上的 3b 2 ml 配接器。將樣本試管載入「Sample」（樣本）抽屜。

9. 使用觸控式螢幕為待處理的每一批樣本輸入所需資訊：

   - 樣本資訊：變更預設試管格式（選擇「Select All」[全選] 按鈕，然後從「Tube Insert」[內管] 表中選擇「Sarstedt reference 72.694」[Sarstedt 參考 72.694]）
   - 待運行的方案：選擇「Select All」按鈕，然後為全血樣本選擇類別「DNA Blood」（DNA 血） → Blood_200_V7_DSP
   - 洗脫體積和輸出位置：全血方案為 100 µl。

   注意：輸入有關批次的資訊後，狀態會從「LOADED」（已加載）變為「QUEUED」（已佇列）。一個批次已佇列後，即會出現「Run」（運行）按鈕。

10. 開始運行

    - 要開始運行，按「Run」（運行）按鈕。
    - 閱讀並確認出現的訊息。

    注意：我們建議在儀器旁等待，直至其執行完內部對照劑的管道液位檢測，並且 QIAsymphony SP 容器狀態變為「RUNNING」（運行中）。

    注意：處理期間請勿暫停或停止運行（除非發生緊急情況），因為這會導致樣本被標記為「unclear」（不明）。

    注意：可以連續加載樣本並將它們加入此運行（直至試劑加載為止）。按「Run」按鈕開始純化程序。

11. 方案運行結束時，批次狀態會從「RUNNING」（運行中）變為「COMPLETED」（已完成）。從「Eluate」（洗脫液）抽屜取回含有純化核酸的洗脫架。

    我們建議在運行完成後立即從「Eluate」（洗脫液）抽屜取下洗脫板。視溫度和濕度而定，運行完成後留在 QIAsymphony SP 內部的洗脫板可能會遭遇冷凝或蒸發。

    注意：一般而言，磁性粒子不會帶入洗脫液。如果任何洗脫液含有黑色粒子，則可按下述步驟清除磁性粒子：

    將含有 DNA 的試管套用到合適的磁力分離機（例如 QIAGEN 12-Tube Magnet，目錄編號 36912），直至磁性粒子分離為止。如果 DNA 在微板中，將微板套用到合適的磁力分離機

（例如 QIAGEN 96-Well Magnet Type A，目錄編號 36915），直至磁性粒子分離為止。如果沒有合適的磁力分離機，在微型離心機中以全速將含有 DNA 的試管分離 1 分鐘，將任何殘留磁性粒子形成小球。

12. 匯出 QIAsymphony SP 結果檔案：每個洗脫板都會生成此報告。
    - 將 U 盤插入 QIAsymphony SP 前部的其中一個 USB 連接埠。
    - 按一下「Tools」（工具）按鈕。
    - 選取「File Transfer」（檔案傳輸）。
    - 在「In-/Output Files」（輸入/輸出檔案）標籤上，選取「Results Files」（結果檔案）並按一下「Transfer」（傳輸）。

    匯出檔案的名稱應具有以下格式：yyyy-mm-ddhh:mm:ss_洗脫架 ID
13. 在 QIAsymphony SP 結果檔案中檢查每一個樣本的「Validity of result」（結果有效性）欄。
    - 有效和不明確狀態：接下來進行 DNA 鑒定和量化。
    - 無效狀態：樣本遭拒。重新處理提取步驟。
14. 如果試劑盒僅部分使用過，在方案運行結束後立即將其用重用密封條密封，並用螺帽封閉含有蛋白酶 K 的試管，以避免蒸發。
15. 根據當地安全規定丟棄使用過的樣本試管、樣本板和廢液。
16. 清潔 QIAsymphony SP。

    遵循您的儀器隨附的使用者手冊中的說明。務必定期清潔吸頭護罩以儘量降低交叉污染風險。
17. 關閉儀器抽屜並關閉 QIAsymphony SP。

DNA 鑒定和量化

應使用 ATE 或 AE 緩衝液來校準分光光度計。之所以有必要使用這些緩衝液，是因為基因組 DNA 提取試劑組中使用的洗脫緩衝液含有以 260 nm 吸收的疊氮化鈉防腐劑。

- A_{260}/A_{280} 比率必須 ⩾1.7，因為小於該值的比率通常表明存在蛋白質污染，或存在有機化學品，這會影響 PCR 步驟。
- DNA 數量透過在 260 nm 下測量光密度來確定。
- 純化 DNA 總量 = 濃度 x 樣本體積（單位：µl）。
- 如果 A_{260}/A_{280} 比率低於 1.7 並且基因組 DNA 濃度低於 10 ng/µL，不得進一步處理樣本。

基因組 DNA 樣本歸一化

必須在 *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 提供的 TE 緩衝液中將 DNA 稀釋到 10ng/µl。

Rotor-Gene Q PCR 經過了最佳化，適用於在 5 µl 最終體積中稀釋的 50 ng 純化基因組 DNA。

方案：在 Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM 儀器上執行 qPCR

開始前要點

- 必須在 Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM 儀器上使用 Rotor-Gene AssayManager v2.1 運行 *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit。在開始方案前，請花時間熟悉 Rotor-Gene Q MDx 儀器。請參閱儀器、Rotor-Gene AssayManager v2.1 和 Gamma Plug-in 的使用者手冊以了解詳情。
- Rotor-Gene AssayManager v2.1 可實現 PCR 結果的自動解讀。運行的循環參數處於鎖定狀態。

開始前需完成的事項

必須在連接 Rotor-Gene Q 的電腦上安裝 Rotor-Gene AssayManager v2.1 軟體，該軟體可從 QIAGEN 網站下載：www.qiagen.com/Products/Rotor-GeneAssayManager_v2.1.aspx。有關 Rotor-Gene AssayManager v2.1 核心軟體安裝的詳情，請參閱 Rotor-Gene AssayManager v2.1 核心應用程式使用者手冊。

- *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 明確要求 Gamma Plug-in，該外掛程式可從 QIAGEN 網站的以下頁面下載：www.qiagen.com/shop/detection-solutions/personalized-healthcare/ipsogen-jak2-rgq-pcr-kit-ce/#resources。該外掛程式必須安裝在已安裝 Rotor-Gene AssayManager v2.1 的電腦上。
- *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 還需要檢測設定檔。該檢測設定檔（.iap 檔案）包含循環和分析 qPCR 檢測所需之全部參數。它可以從 QIAGEN 網站上專用於 *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 的網頁下載：www.qiagen.com/de/shop/detection-solutions/personalized-healthcare/ipsogen-jak2-rgq-pcr-kit-ce/#resources。必須將該檢測設定檔匯入 Rotor-Gene AssayManager v2.1 軟體。

  注意：*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 只能在 Rotor-Gene AssayManager v2.1 軟體中編入特定組態設定的情況下運行。

為確保全系統流程安全性，必須為關閉模式設定下列必需的組態設定：

- 「Material number required」（需要材料編號）
- 「Valid expiry date required」（需要有效到期日期）
- 「Lot number required」（需要批號）

安裝 Gamma Plug-in 和匯入檢測設定檔

*Rotor-Gene AssayManager v2.1 核心應用程式使用者手冊*和 *Gamma Plug-in 使用者手冊*中詳述了 Gamma Plug-in 與檢測設定檔的安裝和匯入。

- 從 QIAGEN 網站下載 Gamma Plug-in 和最新版本的 JAK2CE 檢測設定檔。
- 按兩下 RGAM_V2_1_Gamma_Plug-in.Installation.V1_0_0.msi 檔案並按照安裝說明操作，啟動安裝過程。有關安裝過程的詳細說明，請參閱 *Rotor-Gene AssayManager v2.1 核心應用程式使用者手冊*的「安裝外掛程式」一節。

  注意：為確保全系統流程安全性，請選取「Settings」（設定）標籤，並選中關閉模式（工作清單部分）的「Material number required」（需要材料編號）、「Valid expiry date required」（需要有效到期日期）和「Lot number required」（需要批號）的方塊。如果這些設定未啟用（選中），按一下將它們啟用。
- 成功安裝外掛程式後，需由一名對 Rotor-Gene AssayManager v2.1 軟體擁有系統管理權限的人員按下述步驟匯入 ipsogen_JAK2_blood_CE 檢測設定檔：

1. 以具有系統管理員權限的使用者身分登入 Rotor-Gene AssayManager v2.1 軟體。
2. 選取組態環境。
3. 選取「Assay Profiles」（檢測設定檔）標籤。
4. 按一下「Import」（匯入）按鈕。
5. 在對話方塊中選取要匯入的 ipsogen_JAK2_blood_CE 檢測設定檔，並按一下「Open」（開啟）。
6. 檢測設定檔成功匯入後，即可在「Setup」（設定）環境中使用。

   注意：同一版本的檢測設定檔無法匯入兩次。

在 Rotor-Gene Q MDx 儀器上使用 72 試管轉子處理樣本

我們建議在同一試驗中測試八個基因組 DNA 樣本，以最佳化對照劑、標準樣和反應混合液的使用。

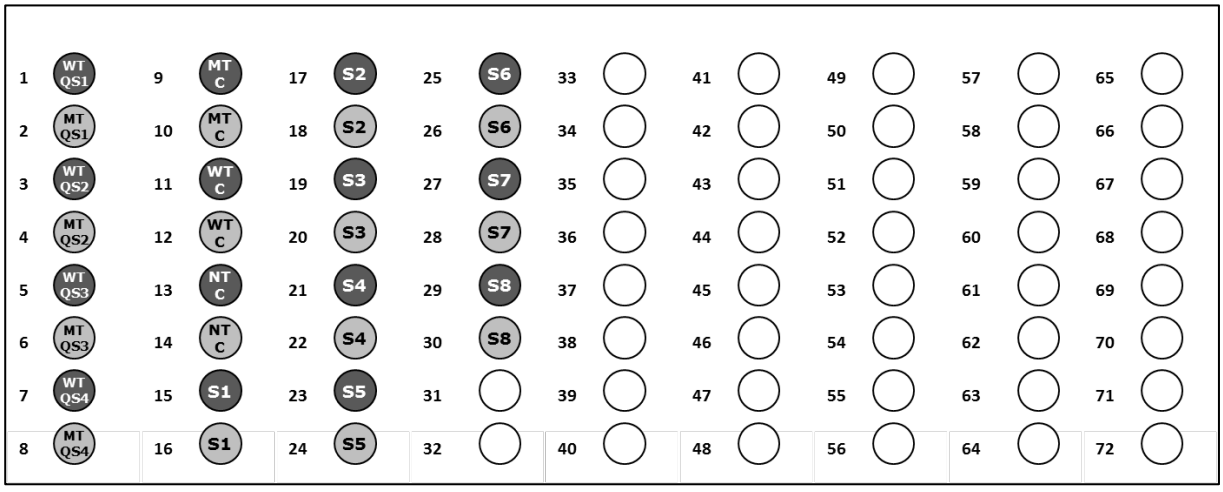
表 2 提供了可以使用 72 試管轉子運行的反應次數。

圖 3 所示方案提供了一個使用 *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 的試驗的上樣裝置或轉子設定範例。

數字表示上樣裝置中的位置，並指示最終轉子位置。

表 2。使用 72 試管轉子的 Rotor-Gene Q MDx 儀器的反應次數

樣本	反應次數
使用 JAK2 MT 反應混合液	
8 個基因組 DNA 樣本	8
JAK2 MT 定量標準樣	4
JAK2 MT 對照劑（突變型）	1
JAK2 WT 對照劑（野生型）	1
Water for no template control (NTC)（無模板控制 [NTC] 用水）	1
使用 JAK2 WT 反應混合液	
8 個基因組 DNA 樣本	8
JAK2 WT 定量標準樣（野生型）	4
JAK2 MT 對照劑（突變型）	1
JAK2 WT 對照劑（野生型）	1
NTC 用水	1



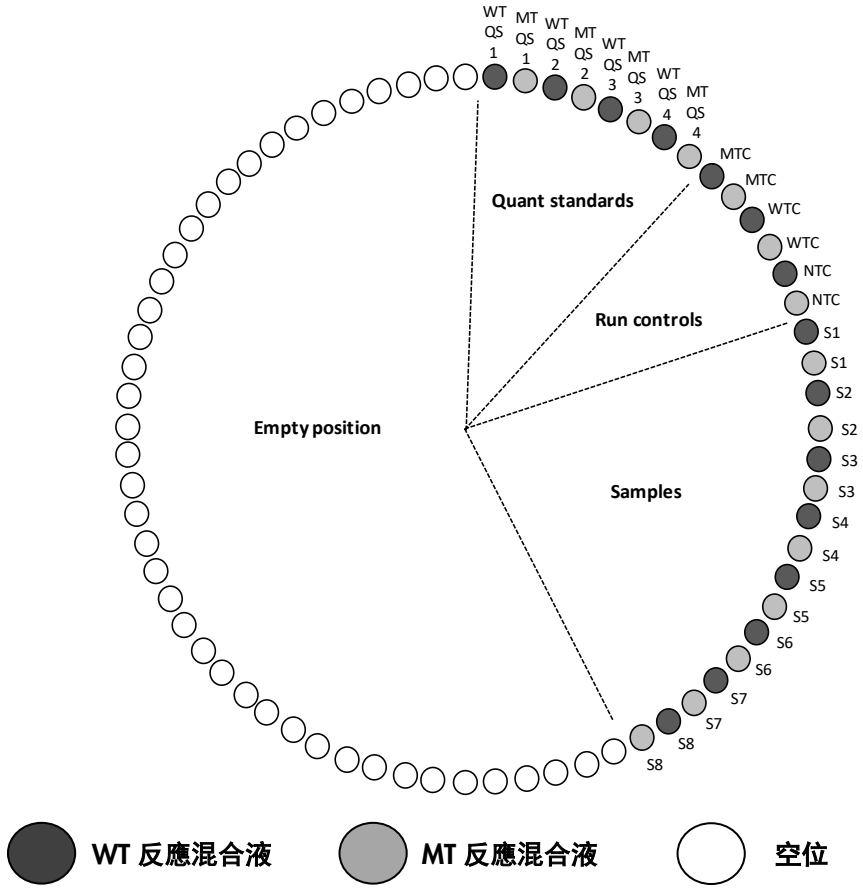


圖 3。 使用 *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 的試驗的洗脫板和轉子設定。WTC：JAK2 WT 對照劑；**MTC**：JAK2 MT 對照劑；**WT-QS**：JAK2 WT 標準樣；**MT-QS**：JAK2 MT 定量標準樣；**S**：基因組 DNA 樣本；**NTC**：無模板對照劑（水）。

必須按圖 3 所示將試管插入轉子，因為檢測設定檔中設定的自動分析基於這種組織。如果使用了不同的版面配置，將獲得異常結果。

注意：用空試管填充所有休息位置。

在 Rotor-Gene Q MDx 儀器上使用 72 試管轉子進行 qPCR 檢測

1. 按下述步驟為待處理樣本建立一個工作清單。
   - 打開 Rotor-Gene Q MDx 儀器。
   - 開啟 Rotor-Gene AssayManager v2.1 軟體，在關閉模式下以操作員角色使用者身份登入。
   - 按一下工作清單管理器（「Setup」[設定] 環境）中的「New manual work list」（新建手動工作清單）按鈕。
   - 從「Assay」（檢測）步驟可用檢測設定檔清單中選取「JAK2 CE assay profile」（JAK2 CE 檢測設定檔）。
   - 按一下「Move」（移動）按鈕，將選定的檢測設定檔轉移至「Selected assay profiles」（選定檢測設定檔）清單。檢測設定檔此時應顯示在「Selected assay profiles」（選定檢測設定檔）清單中。
   - 在相應欄位中輸入樣本數。
   - 選取設定的「Kit information」（試劑組資訊），並輸入以下印刷在盒蓋上的 JAK2 試劑組資訊
     - 材料編號：1079182
     - 有效到期日期
     - 批號

     此外，還可以輸入或掃描試劑組條碼。
   - 選取「Samples」（樣本）步驟。隨即顯示一個包含樣本詳情的清單。此清單代表預期的轉子版面配置。
   - 在此清單中輸入樣本識別號以及任何可選樣本資訊，作為每個樣本的註解。
   - 選取「Properties」（屬性）步驟，並輸入工作清單名稱。
   - 啟用「is applicable」（適用）核取方塊。
   - 儲存工作清單。
   - 可將工作清單列印出來，這有助於 qPCR 的準備和設定。要列印工作清單，請按「Print work list」（列印工作清單）按鈕。樣本詳細資料是作為這個工作清單的一部分包含在內。

   注意：可在於儀器內設定完試驗或將樣本加入儀器前建立工作清單，因為工作清單檔案可以儲存。
2. 設定 qPCR 試驗。
   - 將所有必需成分解凍，但 *Taq* DNA 聚合酶除外，不使用時必須將其存放在冰箱內。將含有待解凍成分的試管置於冰上。

     注意：解凍步驟不要超過 30 分鐘，以避免發生任何材料退化。

- 清潔專用於製備 PCR 混合液的工作台區域，以確保不發生模板或核酸酶污染。
- 透過將含有標準樣、對照劑和反應混合液的試管倒置 10 次進行輕緩的混合，並在使用前使用離心機進行短時間分離。

3. 根據待處理的樣本數製備下列 qPCR 混合液。

   所有濃度均為最終反應體積的濃度。

   表 3 和 表 4 介紹了製備一種 MT 和一種 WT 試劑混合液的移液方案，經計算要達到 25 µl 的最終反應體積。其中包括額外用來補償移液錯誤以及適應 8 個樣本和對照劑的體積。

表 3。製備用於檢測 JAK2 MT 序列的 qPCR 混合物

成分	1 次反應 (µl)	15 +1* 次反應 (µl)	最終濃度
JAK2 MT Reaction Mix（JAK2 MT 反應混合液）	19.8	316.8	1x
Taq DNA Polymerase（Taq DNA 聚合酶）	0.2	3.2	1x
樣本（需要在步驟 4 加入）	5	各 5 個	–
總體積	25	各 25 個	–

* 包括的額外反應體積用作死體積。

表 4。製備用於 JAK2 WT 序列檢測的 qPCR 混合液

成分	1 次反應 (µl)	15 +1* 次反應 (µl)	最終濃度
JAK2 WT Reaction Mix（JAK2 WT 反應混合液）	19.8	316.8	1x
Taq DNA Polymerase（Taq DNA 聚合酶）	0.2	3.2	1x
樣本（需要在步驟 4 加入）	5	各 5 個	–
總體積	25	各 25 個	–

* 包括的額外反應體積用作死體積。

- 振蕩並用離心機短時間分離後，為每個排管分配 20 µl 的 qPCR 預混合液。
- 振蕩並用離心機短時間分離 DNA（基因組 DNA 樣本外加 QS 和對照劑）。然後，將待量化的 5 µl 材料加入到其對應的試管，以達到 25 µl 的總體積。透過上下移液輕緩地混合。
- **注意**：注意為每個試管更換吸頭，以避免任何非特異性模板或反應混合液污染，以及因此帶來的假陽性結果。
- 將所有 *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 成分放回冰箱以避免任何材料退化。

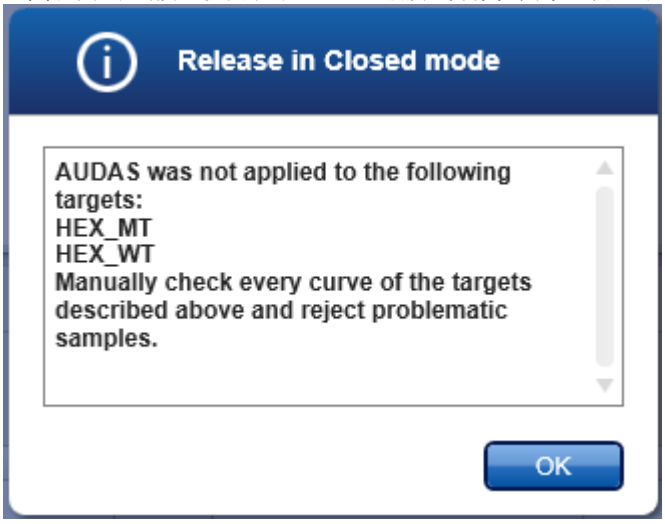
4. 製備 Rotor-Gene Q MDx，並按下述步驟開始運行。
   - 將 72-Well Rotor 置於 Rotor-Gene Q MDx Rotor Holder 上。
   - 按圖 3（第 25 頁）所示根據分配的位置從位置 1 開始用排管填充轉子，將空的帶蓋排管放入所有未使用的位置。

     注意：確保將第一個試管插入位置 1，並按照圖 3 中所示的正確朝向和位置放置排管。
   - 連接鎖環。

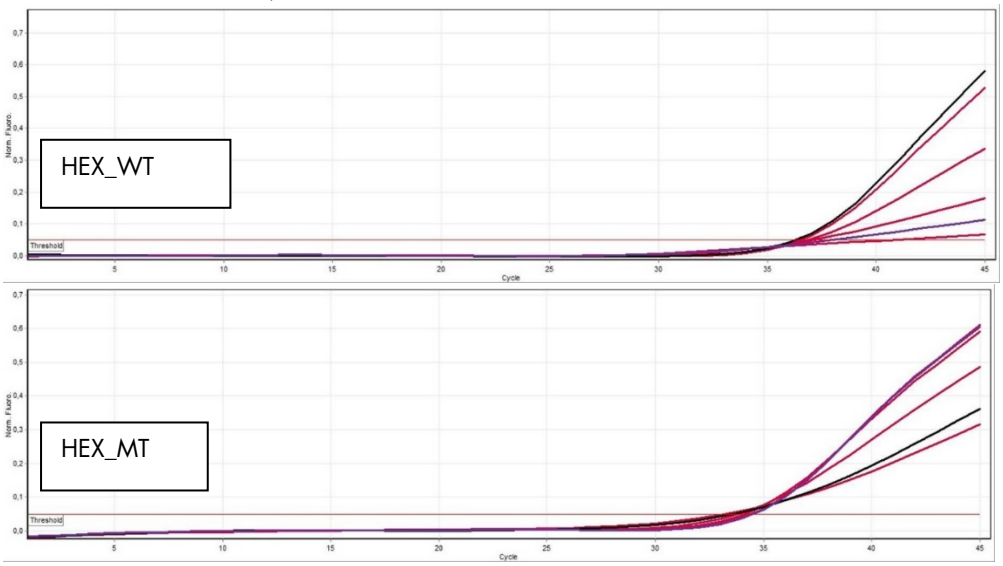
- 加載配有轉子和鎖環的 Rotor-Gene Q MDx 儀器，並合上儀器蓋。
- 在 Rotor-Gene AssayManager v2.1 軟體內，從工作清單管理器選取相應的工作清單並按一下「Apply」（套用）按鈕，或在工作清單仍處於開啟狀態時按一下「Apply」（套用）按鈕。

  注意：如果試驗專用工作清單尚未建立，請登入 Rotor-Gene AssayManager v2.1 並執行步驟 2，然後再執行下述步驟。
- 輸入試驗名稱。
- 在「Cycler selection」（循環器選取）中選取要使用的循環器。
- 檢查鎖環連接正確，並在螢幕上確認鎖環已連接。
- 按一下「Start run」（開始運行）按鈕。
- JAK2 RGQ PCR 運行應會開始。

5. 執行以下操作結束運行。
   - 運行完成時，按一下「Finish run」（完成運行）。
   - 釋放並核准運行：
     - 如果使用者是使用 Approver（核准者）角色登入：按一下「Release and go to approval」（釋放並移至核准）。
     - 如果使用者是使用 Operator（操作員）角色登入：按一下「Release」（釋放）。
6. 釋放結果。
   - 如果按一下「Release and go to approval」（釋放並移至核准），將顯示試驗結果。
   - 將會顯示以下 AUDAS（自動資料掃描）警報。在原始資料曲線的「Plots and Information」（圖和資訊）部分中手動檢查 HEX 目標是否存在異常（例如硬體錯誤導致的注入）。



請注意，內部對照劑 HEX 目標的曲線並不會顯示典型的 S 型（如下列曲線所示），必須視作有效的曲線。請注意，軟體會自動檢查所有其他內部有效性標準（例如 C_T 臨界值。



- 如果角色為使用者的使用者按一下了「Release」（釋放）則角色為「Approver」（核准者）的使用者需要登入並選取「Approval」（核准）環境。
  - 透過選取篩選選項並按一下「Apply」（套用）按鈕篩選出待核准之檢測。
  - 將會顯示上述 AUDAS（自動資料掃描）警報。在原始資料曲線的「Plots and Information」（圖和資訊）部分中手動檢查 HEX 目標是否存在異常（例如硬體錯誤導致的注入）。
  - 請注意，內部對照劑 HEX 目標的曲線並不會顯示典型的 S 型（如上面的曲線所示），必須視作有效的曲線。請注意，軟體會自動檢查所有其他內部有效性標準（例如 C_T 臨界值。
  - 復查結果並按一下「Release/Report data」（釋放/報告資料）按鈕。
  - 按一下「OK」（確定）。將生成 .pdf 格式的報告並自動存儲在預定義的文件夾內。預設情況下，該資料夾路徑為：
    QIAGEN > Rotor-Gene AssayManager > Export > Reports
    注意：可在「Configuration」（組態）環境中變更以上路徑和資料夾。
    注意：如要進行疑難排解，需要來自運行的支援軟體包。可在核准或封存環境中生成支援軟體包（*Rotor-Gene AssayManager v2.1 核心應用程式使用者手冊*「疑難排解」一章的「Creating a support package」[建立支援軟體包]）。此外，事故時間 ±1 天的稽核線索可能也有幫助。可在 Service（服務）環境中擷取稽核線索（*Rotor-Gene AssayManager v2.1 核心應用程式使用者手冊*第 1.5.5.5 節）。

7. 卸載 Rotor-Gene Q MDx 儀器，並根據當地安全規章丟棄排管。

結果判讀

分析過程完全自動化。

Rotor-Gene AssayManager v2.1 *先分析擴增曲線，並可能將不合格曲線作廢，具體視其形狀和噪聲振幅而定。如果實際情況如此，將為作廢的曲線關聯一個標幟。

測試樣本的結果由 Rotor-Gene AssayManager v2.1 自動分析和設定，但必須得到以核准者角色登入的使用者的核准和釋放。待核准的樣本結果在專用列末尾額外有三個核准按鈕。這些按鈕用於以互動方式接受或拒絕樣本結果。有關更多資訊，請參閱 *Gamma Plug-in 使用者手冊*。

Rotor-Gene AssayManager v2.1 隨後會分析運行對照劑：

- NTC：檢查 NTC 是否缺少特定擴增（JAK2 WT 和 JAK2 MT）以及是否存在內部對照劑的擴增。
- WT 和 MT QS：驗證的依據是每一項的 R^2 和斜率。
- WTC：JAK2 總複本數 (total copy number, TCN) 必須足夠高，才能對此對照劑進行判讀。如果實際情況如此，將計算 JAK2 突變百分比。如果根據測試，此運行對照劑的狀態為 WT，即通過驗證。
- MTC：JAK2 總複本數必須足夠高，才能對此對照劑進行判讀。如果實際情況如此，將計算 JAK2 突變百分比。如果此運行對照劑的狀態為 JAK2 突變強陽性，即通過驗證。

  注意：運行結束時生成的報告顯示在運行對照劑上獲得的結果，無效資料前帶有作廢標幟。

如果運行中的所有對照劑均合格，則 Rotor-Gene AssayManager v2.1 將分析未知樣本。

- 在樣本中，總複本數必須足夠高，才能對結果進行判讀。然後計算 JAK2 突變百分比並提供結果。如果在試管中未觀察到特異性擴增（WT 或 MT），將檢查內部對照劑的擴增以確保這並非偽影。必須在每個試管中都觀察到 C_T 值（WT 和 MT），樣本方可通過 Rotor-Gene AssayManager v2.1 的驗證，相應的結果也才有效。

  注意：如果運行對照劑和樣本結果均有效，報告將在每個樣本前顯示複本數和突變百分比。
- 表 5 顯示了 Rotor-Gene AssayManager v2.1 可能會在分析期間分配給個別試管的作廢樣本標幟，以及對標幟含義的解釋。

  表 6（第 33 頁）提供了警告樣本標幟和術語說明。

* 僅針對 FAM 目標啟用。

表 5。作廢樣本標幟和術語說明

標幟	說明
ANALYSIS_FAILED	檢測因分析失敗而設定為無效。聯絡 QIAGEN 技術服務部。
ASSAY_INVALID	檢測因至少一個外部對照劑無效而無效。
CONSECUTIVE_FAULT	用於計算此目標的目標無效
CURVE_SHAPE_ANOMALY	原始資料擴增曲線顯示的形狀偏離了此檢測的既定行為。結果不正確或結果誤判讀的可能性很大。
FLAT_BUMP	原始資料擴增曲線顯示的形狀類似一個偏離了此檢測既定行為的保險杆。結果不正確或結果誤判讀（例如，錯誤的 C_T 值計算）的可能性很大。
INVALID_CALCULATION	此目標的計算失敗。
MC_IC_HIGH_CT (WT)	對於與含有野生型反應混合液的突變型對照劑位於同一試管的內部對照劑而言，檢測到的 C_T 值高於預期。
MC_IC_LOW_CT (WT)	對於與含有野生型反應混合液的突變型對照劑位於同一試管的內部對照劑而言，檢測到的 C_T 值低於預期。
MC_IC_NO_CT (MT)	對於與含有突變型反應混合液的突變型對照劑位於同一試管的內部對照劑而言，檢測不到 C_T 值。
MC_IC_NO_CT (WT)	對於與含有野生型反應混合液的突變型對照劑位於同一試管的內部對照劑而言，檢測不到 C_T 值。
MC_LOW_CN	突變型對照劑的複本數過低。
MC_LOW_PERCENTAGE	突變型對照劑的突變百分比過低。
MC_NO_CN	突變型對照劑無複本數。
MC_NO_CT (MT)	對於含有突變型反應混合液的突變型對照劑而言，檢測不到 C_T 值。
MC_NO_VALUE	突變型對照劑的突變百分比無值。
MULTIPLE_THRESHOLD_CROSSING	擴增曲線多次跨過閾值。無法確定明確的 C_T 值。
NO_BASELINE	未找到初始基線。無法執行後續分析。
NTC_IC_HIGH_CT (MT)	對於與含有突變型反應混合液的无模板對照劑位於同一試管的內部對照劑而言，檢測到的 C_T 值高於預期。
NTC_IC_HIGH_CT (WT)	對於與含有野生型反應混合液的无模板對照劑位於同一試管的內部對照劑而言，檢測到的 C_T 值高於預期。
NTC_IC_NO_CT (MT)	對於與含有突變型反應混合液的無模板對照劑位於同一試管的內部對照劑而言，檢測不到 C_T 值。
NTC_IC_NO_CT (WT)	對於與含有野生型反應混合液的無模板對照劑位於同一試管的內部對照劑而言，檢測不到 C_T 值。
NTC_IC_LOW_CT (MT)	對於與含有突變型反應混合液的无模板對照劑位於同一試管的內部對照劑而言，檢測到的 C_T 值低於預期。
NTC_IC_LOW_CT (WT)	對於與含有野生型反應混合液的无模板對照劑位於同一試管的內部對照劑而言，檢測到的 C_T 值低於預期。
NTC_UNEXPECTED_VALUE	在無模板對照劑中檢測到 C_T。
OTHER_TARGET_INVALID	相同樣本的其他目標無效。
OUT_OF_COMPUTATION_RANGE	為此樣本計算的濃度超過了技術限值。
QS_HIGH_SLOPE (MT)	超過了突變型斜率的上限。
QS_HIGH_SLOPE (WT)	超過了野生型斜率的上限。
QS_IC_NO_CT (WT)	對於與一個或多個野生型量化標準樣位於同一試管的內部對照劑而言，檢測不到 C_T 值。
QS_LOW_SLOPE (MT)	未達突變型斜率的下限。

標幟	說明
QS_LOW_SLOPE (WT)	未達野生型斜率的下限。
QS_LOW_RSQUARED (MT)	未達突變型 R^2 的下限。
QS_LOW_RSQUARED (WT)	未達野生型 R^2 的下限。
QS_NO_CT (MT)	對於一個或多個突變型量化標準樣而言，檢測不到 C_T 值。
QS_NO_CT (WT)	對於一個或多個野生型量化標準樣而言，檢測不到 C_T 值。
RUN_FAILED	檢測因循環器或循環器連接問題而設定為無效。
RUN_STOPPED	檢測因手動停止了運行而設定為無效。
SAMPLE_LOW_CN	測試樣本的複本數過低。
SAMPLE_MT_IC_HIGH_CT	對於與含有突變型反應混合液的測試樣本位於同一試管的內部對照劑而言，檢測到的 C_T 值高於預期。
SAMPLE_MT_IC_LOW_CT	對於與含有突變型反應混合液的測試樣本位於同一試管的內部對照劑而言，檢測到的 C_T 值低於預期。
SAMPLE_MT_IC_NO_CT	對於與含有突變型反應混合液的測試樣本位於同一試管的內部對照劑而言，檢測不到 C_T 值。
SAMPLE_NO_CN	測試樣本無複本數。
SAMPLE_NO_VALUE	沒有測試樣本的突變百分比值。
SAMPLE_WT_IC_HIGH_CT	對於與含有野生型反應混合液的測試樣本位於同一試管的內部對照劑而言，檢測到的 C_T 值高於預期。
SAMPLE_WT_IC_LOW_CT	對於與含有野生型反應混合液的測試樣本位於同一試管的內部對照劑而言，檢測到的 C_T 值低於預期。
SAMPLE_WT_IC_NO_CT	對於與含有野生型反應混合液的測試樣本位於同一試管的內部對照劑而言，檢測不到 C_T 值。
SATURATION	原始資料螢光在擴增曲線的拐點前達到強飽和。
SPIKE_CLOSE_TO_CT	在靠近 C_T 的擴增曲線中檢測到尖峰。
STEEP_BASELINE	在擴增曲線中檢測到原始資料螢光的陡升基線。
STRONG_BASELINE_DIP	在擴增曲線中檢測到原始資料螢光的陡降基線。
STRONG_NOISE	在擴增曲線的增長相之外檢測到強噪聲。
STRONG_NOISE_IN_GROWTH_PHASE	在擴增曲線的增長（指數）相之外檢測到強噪聲。
WAVY_BASE_FLUORESCENCE	在擴增曲線中檢測到原始資料螢光的波浪基線。
WTC_HIGH_PERCENTAGE	野生型對照劑的突變百分比過高。
WTC_IC_HIGH_CT (MT)	對於與含有突變型反應混合液的野生型對照劑位於同一試管的內部對照劑而言，檢測到的 C_T 值高於預期。
WTC_IC_LOW_CT (MT)	對於與含有突變型反應混合液的野生型對照劑位於同一試管的內部對照劑而言，檢測到的 C_T 值低於預期。
WTC_IC_NO_CT (MT)	對於與含有突變型反應混合液的野生型對照劑位於同一試管的內部對照劑而言，檢測不到 C_T 值。
WTC_IC_NO_CT (WT)	對於與含有野生型反應混合液的野生型對照劑位於同一試管的內部對照劑而言，檢測不到 C_T 值。
WTC_LOW_CN	野生型對照劑的複本數過低。
WTC_NO_CT (WT)	對於含有野生型反應混合液的野生型對照劑而言，檢測不到 C_T 值。
WTC_NO_CN	野生型對照劑無複本數。
WTC_NO_VALUE	野生型對照劑的突變百分比無值。

表 6。警告樣本標幟和術語說明

標幟	說明
LOW_FLUORESCENCE_CHANGE	此樣本相對於螢光變化最大樣本試管的螢光變化百分比低於定義的限值。
LOW_REACTION_EFFICIENCY	此樣本的反應效率未達定義的限值。
SPIKE	在擴增曲線中確定 C_T 值的區域外檢測到原始資料螢光尖峰。

疑難排解指南

本疑難排解指南對解決發生的任何問題都可能有用。如需了解更多資訊，請參閱我們技術支援中心的常見問題頁面：**www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx**。如果您對本手冊中的資訊和方案，或對樣本和檢測技術有任何問題，QIAGEN 技術服務部的科學家將樂意為您解答（欲獲得聯絡資訊，請參見第 42 頁的「聯絡資訊」）。

有關提取試劑組 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit（目錄編號 61104）和 QIAsymphony DNA DSP Mini Kit（目錄編號 937236）的疑難排解資訊，請參閱對應的手冊。

	意見和建議
自動提取	
樣本標幟為「unclear」（不明）	這可能是由於在提取運行期間暫停所致。如果提取運行已完成，請執行 OD 比率和濃度測量步驟。否則，重複提取運行。
樣本標幟為「unprocessed」（未處理）	這是指初始樣本體積錯誤。透過移液驗證血量。如果血量過低，透過增加血量使樣本體積達到 300 µl，然後重新開始運行。
樣本標幟為「invalid」（無效）	提取運行期間出錯。為此樣本重複提取步驟。
冷卻塊溫度錯誤	運行結束時出現有關冷卻溫度的錯誤訊息意味著樣本自提取運行結束起便存放在室溫 (15 – 25° C) 下。如果樣本存放在室溫下不到 12 小時，基因組 DNA 品質應該不會變更，可以對基因組 DNA 進行量化。如果超過 12 小時，DNA 樣本可能已退化。如果實際情況如此，重複提取。
洗脫板拆卸錯誤	運行結束時，如果拆卸洗脫板時未在螢幕上檢查相關操作，可能會出現一則錯誤訊息。這可以透過按一下相關方塊進行糾正。
使用 *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 進行 JAK2 突變狀態評估的一般處理	
總複本數不合格，相應樣本無效：擴增過低	
a) 檢查 A_{260}/A_{280} 比率	如果它小於 1.7，則執行新的 DNA 提取。
b) 檢查 DNA 濃度	*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 針對 10 ng/µl 工作濃度進行了最佳化。 如果 DNA 濃度不在此濃度，進行稀釋或從全血重新提取 DNA。
c) 如果兩個參數均合格，可能是移液體積不正確	檢查並重新校準移液器，然後再重複 qPCR 步驟。
運行對照劑在 QS 標準樣上失敗	
a) 瓶倒置	檢查移液方案和反應的設定。 將試劑組內容存放在 – 30 至 – 15° C 環境中，並將反應混合液避光。 避免反復凍結和解凍。
b) 分配期間倒置	
c) 交叉污染	
d) 標準樣部分退化	
e) PCR 試劑部分退化	
f) 非特異性擴增	
一個標準樣無訊號或訊號弱	
a) 分配問題	檢查移液方案和反應的設定。 重複 PCR 運行。
b) 為 WT 和 MT QS 使用相同的反應混合液	

	意見和建議
H_2O 的無模板對照劑 (NTC) 為陽性	
a) 交叉污染	更換所有關鍵試劑。
b) 試劑污染	始終按照得到普遍認可的慣例處理樣本、試劑組成分和消耗品，以防止夾帶污染。
c) 排管倒置	避光存放反應混合液。
d) 探針降解	檢查螢光曲線上有無假陽性。
無訊號，即便在標準樣對照劑中也是如此	
移液錯誤或試劑遺漏	檢查移液方案和反應的設定。 重複 PCR 運行。
樣本中無訊號或訊號弱，但對照劑運行正常	
純化不足導致的樣本材料抑製作用	開始前務必透過測量 A_{260}/A_{280} 比率檢查 DNA 品質。 重複 DNA 製備。
野生型對照劑 (Wild-Type Control, WTC) 為陽性，但突變型對照劑 (Mutant Control, MTC) 陽性不足	
夾帶污染	更換所有關鍵試劑。 使用所有試劑的新等分重複試驗。 始終按照得到普遍認可的慣例處理樣本、試劑組成分和消耗品，以防止夾帶污染。 確保在吸取不同試劑時更換吸頭。
使用相互反應混合液的野生型對照劑 (WTC) 或突變型對照劑 (MTC) 訊號	
a) 交叉污染	更換所有關鍵試劑。 使用所有試劑的新等分重複試驗。 始終按照得到普遍認可的慣例處理樣本、試劑組成分和消耗品，以防止夾帶污染。 檢查移液方案和反應的設定。
b) 試劑污染	
c) 試管倒置	
陽性對照劑的反向檢測	
a) 交叉污染	檢查移液方案和反應的設定。
b) 試管或預混合液中反應混合液的分佈反演。	
樣本或對照劑無訊號，即便是內部對照劑也沒有	
a) 未加入反應混合液	檢查移液方案和反應的設定。如果內部對照劑未擴增，則表明反應混合液未加入或已降解。 使用新的反應混合液重複 qPCR 步驟。
b) 反應混合液已降解	

注意：如果不能將問題歸因於任何上述原因，或者建議的糾正措施未能解決問題，請聯絡 QIAGEN 技術服務部徵求意見。

品質控制

已對 Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM 儀器執行了全試劑組品質控制。此試劑組是按照 ISO 13485:2012 標準生產。**www.qiagen.com/support/** 上可應要求提供分析證書。

限制

本試劑組專用於專業用途。

產品只能由接受過專門指導和分子生物學技術訓練並熟悉這項技術的人員使用。

應按照本手冊中提供的說明，將本試劑組與第 10 頁「需要但並未提供的材料」中提及的已驗證儀器搭配使用。

應注意盒標籤上印刷的到期日期。請勿使用過期成分。

ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit 中提供的所有試劑僅適用於與同一試劑組中提供的其他試劑搭配使用。未能遵守本準則可能會影響效能。

ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit 僅驗證過可用於從疑似 MPN 病患採集並經鉀 EDTA 抗凝處理的全血。

ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit 只進行過與 QIAsymphony DNA DSP Mini Kit（目錄編號 937236）或 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit（目錄編號 61104）的組合使用驗證。

ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit 只進行過與 Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM（用於 PCR）和 QIAsymphony SP（用於樣本製備）的組合使用驗證。

本產品任何標示外使用和/或成分改動都會使 QIAGEN 的責任失效。

生成的任何診斷結果都必須結合其他臨床或實驗室結果進行判讀。不存在 JAK2 V617F/G1849T 突變不能排除其他 JAK2 突變的存在。

使用者有責任對其實驗室中採用的不在 QIAGEN 效能研究範圍內的任何程序進行系統效能驗證。

效能特性

空白極限

空白極限 (Limit of blank, LOB) 是使用 WT JAK2 狀態、30 個樣本、120 次測量/批、3 批按照有關健康全血樣本的 CLSI/NCCLS EP17-2A 標準確定。

表 7 總結了 LOB 結果。

表 7。LOB 結果摘要

	測量的 LOB	最終空白極限
驗證批 1	0%	
驗證批 2	0%	0%
驗證批 3	0%	

檢測極限

檢測極限（LOD 或分析靈敏度）是根據 CLSI/NCCLS EP17-2A 標準中所述的「概率單位方法」確定。在此研究中，對 3 個獨立樣本（MPN 全血 DNA 注入 WT 全血 DNA）進行了 6 個低水平突變分析，樣本共有 3 批，每個樣本和每個突變進行 60 次測量。獲得的結果表明，分析靈敏度為 JAK2 V617F 突變的 0.042%。

表 8 總結了 LOD 結果。

表 8。LOD 結果摘要

	測量的 LOD	最終空白極限
驗證批 1	0.041%	
驗證批 2	0.029%	0.042%
驗證批 3	0.042%	

線性

透過使用一批 *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 對五種不同 DNA 輸入進行 11 種突變水平的測試，按照 CLSI/NCCLS EP06AE 標準對 MPN 病患 JAK2 突變量化的線性進行了評估。MPN 樣本中 JAK2 突變負荷的量化為線性，即 *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 能夠對樣本進行從 LOD 值至 100% 突變的量化，前提是量化後的樣本濃度須接近 10 ng/µl（5 至 20 ng/µl）。

重複性和再現性

按照 CLSI/NCCLS EP5-A2 標準執行了精確度研究。對 11 種突變水平執行了測試，每個水平等分測試，在 27 天內共執行 54 次運行，即每個突變水平進行 108 次測量。表 9 總結了結果。

表 9。精確度結果

樣本	平均 JAK2 突變百分比	SD_{R+}	SD_{RUN++}	$SD_{TOTAL+++}$	CV_{TOTAL}
S1	72.67	1.99	2.99	5.45	7.50%
S2	53.96	2.48	3.16	6.52	12.09%
S3	23.13	1.59	1.95	4.51	19.52%
S4	11.97	1.10	1.17	2.79	23.27%
S5	6.01	0.71	0.63	1.57	26.17%
S6	2.39	0.31	0.36	0.70	29.23%
S7	1.23	0.17	0.16	0.34	27.38%
S8	0.63	0.13	0.12	0.24	37.88%
S9	0.13	0.05	0.03	0.07	52.31%
S10	0.07	0.03	0.02	0.04	65.01%
S11	0.007	0.01	0.002	0.01	146.84%

R+：重複性。
RUN++：運行之間的再現性。
TOTAL+++：總精確度（包括儀器間、操作員間和批間）。
CV_{TOTAL}：總精確度變化系數 (%JAK2 MT)。

干擾物質

研究設計的依據是 NCCLS 標準 EP7-A2「臨床化學中的干擾測試」中所述的建議。共選擇了 17 種血樣中可能存在的物質進行對 PCR 潛在影響的測試（二甲磺酸丁酯、氫溴酸西酞普蘭、鹽酸帕羅西汀、鹽酸舍曲林、鹽酸氟西汀、對乙醯氨基酚 [醋氨酚]、遊離膽紅素、鉀 EDTA、血紅蛋白 [人類]、甘油三酯、賴諾普利脫水劑、羥基尿素、乙醯水楊酸、水楊酸、塞替派、阿納格雷、干擾素 α-2b）。獲得的結果表明這些物質沒有干擾影響。

臨床驗證和方法比較

在兩個法國臨床中心執行了一項包括 65 個 MPN 臨床血樣的研究，將 QIAGEN 開發的 *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 與 *ipsogen* JAK2 Mutа*Quant*® Kit（用作基準方法）進行比較。

對共計 65 個 MPN 血樣進行了冷凍、解凍，並提取了基因組 DNA。所有樣本都通過了兩種基因組 DNA 提取方法的 DNA 品質控制。

使用 Deming 迴歸對根據兩種方法測量的 JAK2 突變百分比進行了比較。如圖 4 所示，對於 0% 至 95% 突變水平 (R^2=0.969) 的 JAK2 突變樣本，基準方法與 *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 關聯密切。

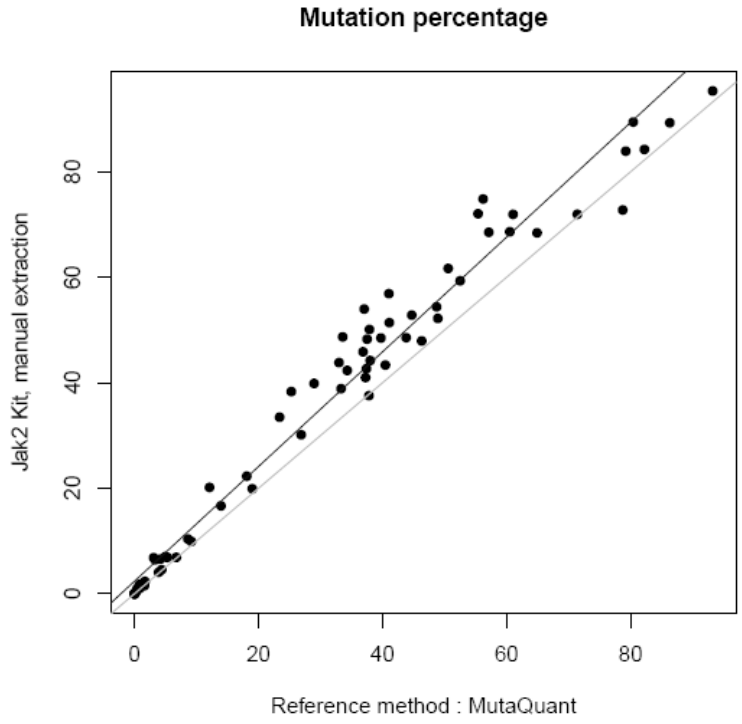


圖 4。 使用 *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 和基準方法在相同樣本上獲得的 JAK2 V617F 突變百分比圖表。

使用 *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 獲得的 JAK2 突變百分比總體上高於使用基準方法獲得的百分比，突顯了這一新試劑組更好的靈敏度 (~ 1log) (9)。

參考資料

1. James C., et al. (2005) A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. Nature 434, 1144.
2. Levine R.L., et al. (2005) Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. Cancer Cell 7, 387.
3. Kralovics R., et al. (2005) A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. N. Engl. J. Med. 352, 1779.
4. Baxter E.J., et al. (2005) Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. Lancet 36, 1054.
5. Tefferi A., et al. (2009) Myeloproliferative neoplasms: contemporary diagnosis using histology and genetics. Nat. Rev. Clin. Oncol. 6, 627.
6. Prchal J.F. and Axelrad A.A. (1974) Bone marrow responses in polycythemia vera. N. Engl. J. Med. 290, 1382.
7. Tefferi A. and Vardiman J.W. (2008) Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. Leukemia, 22, 14.
8. Lippert E. et al. (2014) Clinical and biological characterization of patients with low (0.1-2%) JAK2V617F allele burden at diagnosis. Haematologica. 99, e98.
9. Jovanovic J., et al (2013) Establishing optimal quantitative-polymerase chain reaction assays for routine diagnosis and tracking of minimal residual disease in JAK2V617F associated myeloproliferative neoplasms: A joint European LeukemiaNet/MPN&MPNr-EuroNet (COST action BM0902) study. Leukemia 27, 2032.

符號

包裝和標籤上可能出現以下符號：

含有足夠進行 <N> 次反應的試劑

使用期限

體外診斷醫療器材

目錄號碼

批號

材料編號

全球交易品項識別代碼

溫度限制

製造商

避光

參閱使用說明

警告

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（參閱封底或瀏覽 **www.qiagen.com**）。

訂購資訊

產品	目錄	目錄編號
ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit (24)	24 次反應：野生型 JAK2 基因對照劑、JAK2 V617F 對照劑基因、JAK2 WT 定量標準樣、JAK2 MT 定量標準樣、JAK2 WT 反應混合液、JAK2 MT 反應混合液、Taq DNA 聚合酶、用於擴張的 TE 緩衝液、NTC 用水	673623
Rotor-Gene Q MDx – 適用於臨床應用中的 IVD 驗證即時 PCR 分析		
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	即時定量 PCR 系統和高解析度融化分析儀，帶有 5 個通道（綠色、黃色、橙色、紅色和深紅色）加 HRM 通道、膝上型電腦、軟體、配件、為期 1 年的零件維修保固，不包括人工、安裝和培訓	9002032
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	即時定量 PCR 系統和高解析度融化分析儀，帶有 5 個通道（綠色、黃色、橙色、紅色和深紅色）加 HRM 通道、膝上型電腦、軟體、配件，為期 1 年的零件維修保固以及人工、安裝和培訓	9002033
Rotor-Gene Assay Manager 2.1 Software	用於與 Rotor-Gene Q 搭配進行例行測試的軟體	9024203
Rotor-Gene Assay Manager 2.1 License	用於安裝在一台電腦上的單授權軟體	9025620
Loading Block 72 x 0.1ml Tubes	帶有 72 × 0.1 ml 試管的鋁製區塊，使用單通道吸量管進行人工反應設定	9018901
Strip Tubes and Caps, 0.1ml (250)	250 個 4 連排管，以及用於 1000 次反應的蓋	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1ml (2500)	10 × 250 個 4 連排管，以及用於 10,000 次反應的蓋	981106
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit	50 次製備：QIAamp Mini 離心柱、緩衝液、試劑、試管、VacConnectors	61104
QIAsymphony DSP DNA Mini Kit	用於各 200 µl 的 192 製備液：包括 2 個試劑盒和酶架及配件。	937236
QIAsymphony SP and accessories		
QIAsymphony SP System	QIAsymphony 樣本製備模組：含安裝和訓練，1 年部件保固和人工	9001751
QIAsymphony SP	QIAsymphony 樣本製備模組：含 1 年部件保固和人工	9001297
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	與 QIAsymphony SP 搭配使用的 8 孔樣本製備盒	997002
8-Rod Covers (144)	與 QIAsymphony SP 搭配使用的 8-Rod Covers	997004
Filter-Tips, 200 µl, Qsym SP (1024)	拋棄式過濾吸頭，帶支架；(8 x 128)。供搭配 QIAcube® 和 QIAsymphony SP/AS 儀器使用	990332
Filter-Tips, 1500 µl, Qsym SP (1024)	拋棄式過濾吸頭，帶支架；(8 x 128)。供搭配 QIAsymphony SP/AS 儀器使用	997024
Elution Microtubes CL (24 x 96)	非無菌聚丙烯試管（0.85 ml 最大容量，< 0.7 ml 存儲容量，0.4 ml 洗脫容量）；2304 使用 96 單位支架；含蓋條	19588
RNase A (17,500 U)	2.5 ml（100 mg/ml；7000 單位/ml，溶液）	19101
Buffer ATL (200 ml)	可用於 1000 次製備的 200 ml 組織裂解緩衝液	19076

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 試劑組手冊或使用者手冊。QIAGEN 試劑組手冊和使用者手冊可從 **www.qiagen.com** 上下載，或者從 QIAGEN 公司技術服務或您當地經銷商處取得。

本產品專用於體外診斷。未經 QIAGEN 書面授權，不得將 *ipsogen* 產品轉售、改造後再銷售或用於生產商用產品。
本文件中的資訊可能隨時變更，恕不另行通知。QIAGEN 對本文件中可能出現的任何錯誤不承擔任何責任。本文件視為發佈時就已完整並準確。在任何情況下，對與使用本文件有關或因使用本文件而引起的附帶、特殊、多重或繼發性損害，QIAGEN 不承擔任何責任。
ipsogen 產品保證可達到其規定規格。QIAGEN 的唯一義務以及客戶的唯一補償僅限在產品無法達到保證效能時免費更換產品。
JAK2 V617F 突變及其使用受專利權保護，包括歐洲專利 EP1692281、美國專利 7,429,456 和 7,781,199、美國專利申請 US20090162849 和 US20120066776 以及外國相應專利。
購買本產品並不代表轉讓其在 JAK2V617F 靶向藥物臨床試驗中的使用權。QIAGEN 為此類用途制定了專門的授權計畫。請透過 jak2licenses@qiagen.com 聯絡我們的法律部。

商標：QIAGEN®、Sample to Insight®、QIAamp®、QIAcube®、QIAsymphony®、HotStarTaq®、*ipsogen*®、MutaQuant®、Rotor-Gene®、Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN Group)；SYBR® (Thermo Fisher Scientific Inc.)；Sarstedt® (Sarstedt AG & Co)。

有限授權合約
使用本產品表示 *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 的購買者或使用者同意以下條款：
1. *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit 只能按照 *JAK2 RGQ PCR Kit 手冊*與試劑組內包含的成分搭配使用。不得將本試劑組隨附的成分與任何未包含在本試劑組中的成分搭配或整合使用，QIAGEN 未在其智慧財產權下授予任何此等授權，除非在 *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit 手冊*或 **www.qiagen.com** 上提供的其他方案中另有說明。
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. 本試劑組及其成分僅供一次使用，不得重複使用、翻新或再銷售。
4. 除了特別聲明的授權外，QIAGEN 明確否認全部明示或暗示的任何其他授權。
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授權協定的禁止事項，並應取得在強制執行此有限授權協定，或本試劑組和/或其成分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。

有關最新的授權條款，請瀏覽 **www.qiagen.com**。
HB-1829-005 1107956 157038730 © 2017 QIAGEN，保留所有權利。

訂購：**www.qiagen.com/shop** | 技術支援：**support.qiagen.com** | 網站：**www.qiagen.com**