

2020 年 12 月

QIAsymphony[®] SP

操作规程单

circDNA_2000_DSP_V2 和
circDNA_4000_DSP_V2

本文档是 QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit 操作规程单, V2, R1

一般信息

供体外诊断使用。

此操作规程用于使用 QIAasymphony SP 和 QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit 从新鲜或冷冻的人类血浆和尿液中纯化人类循环游离 DNA。

试剂盒	QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit (目录编号 937556)	
样本材料	人类血浆: 抗凝血 EDTA 或柠檬酸盐, 或稳定的 ccfDNA 人类尿液: 非稳定或稳定	
方案名称	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
默认测定控制设备	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
洗脱容量	60 µl	60 µl
所需软件版本	版本 4.0 或以上	版本 5.0 或以上

“Sample” (样本) 抽屉

样本类型	人类血浆 (请参阅“制备样本材料”) 和人类尿液 (稳定或非稳定)
样本体积	取决于所用样本试管类型 有关更多信息, 请参阅 www.qiagen.com 产品页面的“资源”标签下提供的实验器具清单。
主要样本试管	n/a
辅助样本试管	有关更多信息, 请参阅 www.qiagen.com 产品页面的“资源”标签下提供的实验器具清单。
垫片	n/a
其他	需要在插槽 A (位置 1 和/或 2) 中添加蛋白酶 K

n/a = 不适用。

“Sample” (样本) 抽屉中制备蛋白酶 K

QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit 包含随时可用的蛋白酶 K 溶液, 这些溶液可以在室温下 (15-25°C) 储存。

提示: 含有蛋白酶 K 的试管置于试管架上。含有蛋白酶 K 的试管必须置于“Sample” (样本) 抽屉插槽 A 中的位置 1 和/或 2。有关所需试管类型, 请参阅 www.qiagen.com 产品页面的“资源”标签下提供的实验器具清单。

样本数量*	circDNA_2000_DSP	circDNA_4000_DSP
8	1980 µl	2860 µl
24	3740 µl	6380 µl
48	6380 µl	11.660 µl
72	9020 µl	18.040 µl [†]
96	11.660 µl	23.320 µl [†]

* 对于每个样本，circDNA_2000_DSP 需要 110 µl，或者 circDNA_4000_DSP 需要 220 µl，加上额外的空隙容量 1100 µl [(n x 110 或 220 µl) + 1100 µl]。

[†] 对于 circDNA_4000_DSP：如果处理超过 48 份样本，请使用辅助试管。每个试管的最大装入容量是 11.660 µl。对于辅助试管，需要额外的空隙容量 1100 µl。

“Reagents and Consumables”（试剂和耗材）抽屉

位置 A1 和/或 A2	试剂盒
位置 B1	n/a
吸头盒载架 1-18	一次性过滤吸头，200 µl 或 1500 µl
单元盒载架 1-4	包含样本制备试剂盒或 8-Rod Covers

n/a = 不适用。

“Waste”（废弃物）抽屉

单元盒载架 1-4	空单元盒
废物袋载架	废物袋
液态废物瓶载架	液态废物空瓶

“Eluate”（洗脱液）抽屉

洗脱架（建议使用冷却位置插槽 1）	有关更多信息，请参阅 www.qiagen.com 产品页面的“资源”标签下提供的实验器具清单。
-------------------	--

所需的塑料器具

操作规程 circDNA_2000_DSP

塑料器具	一批 24 个样本*	两批 48 个样本*	三批 72 个样本*	四批 96 个样本*
一次性过滤吸头，200 µl [‡]	28	56	84	112
一次性过滤吸头，1500 µl [‡]	56	112	168	224
样本制备盒 [§]	15	30	45	60
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* 在每个批次中使用的样本数小于 24，将减少每次运行所需的一次性过滤吸头的数量。

[†] 具有 32 个过滤吸头/1 个过滤吸头的载架。

[‡] 所需的过滤吸头数量包括每个试剂卡盒 1 次库存扫描的过滤吸头。

[§] 具有 28 个样本制备试剂盒/单元盒。

[¶] 具有 12 个 8-Rod Covers/单元盒。

操作规程 circDNA_4000_DSP

塑料器具	一批 24 个样本*	两批 48 个样本*	三批 72 个样本*	四批 96 个样本*
一次性过滤吸头, 200 μ l [†]	28	56	84	112
一次性过滤吸头, 1500 μ l [‡]	96	192	288	384
样本制备盒 [§]	18	36	54	72
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* 在每个批次中使用的样本数小于 24, 将减少每次运行所需的一次性过滤吸头的数量。

[†] 具有 32 个过滤吸头/1 个过滤吸头的载架。

[‡] 所需的过滤吸头数量包括每个试剂卡盒 1 次库存扫描的过滤吸头。

[§] 具有 28 个样本制备试剂盒/单元盒。

[¶] 具有 12 个 8-Rod Covers/单元盒。

提示: 根据设置不同, 提供的过滤吸头数量可能与触摸屏中显示的数量不同。建议加载最大数量的吸头。

洗脱容量

所选洗脱容量	初始洗脱容量
60 μ l	75 μ l

在触摸屏上选择洗脱容量。平均可用洗脱容量为 $\geq 60 \mu$ l。在个别情况下, 单一样本的最终洗脱容量可能最多比所选容量 (例如 55 μ l) 少 5 μ l。由于系统不会在移液之前验证洗脱容量, 建议在使用自动化测定设置系统时检查实际洗脱容量。

洗脱液的存储

建议在运行结束之后, 立即从“Eluate”(洗脱液)抽屉拆下洗脱板。通宵完成运行之后, 洗脱板可能留在 QIA Symphony SP 中 (最长为 16 小时, 包括运行时间; 建议的环境条件: 18 - 26°C 和相对湿度 20 - 75%)。根据温度和湿度, 洗脱液可能会冷凝或蒸发。

在制备样本之后, 洗脱液可以在 2 - 8°C 的温度下存储长达 1 个月。对于长期存放, 洗脱液可以在 -30 至 -15°C 或 -90° 至 -65°C 的温度下存储。冷冻的洗脱液不得融化超过三次。

制备样本材料

工作中如接触化学品, 则必须始终穿着合适的实验工作服, 并戴好一次性手套和护目镜。如需更多信息, 请查阅该产品供应商提供的相关安全数据表 (Safety Data Sheet, SDS)。

实验开始前重要注意事项

- 防止在样本中或表面形成泡沫。
- 在开始运行之前, 样本应该适应室温 (15 - 25°C) 环境。

人类血浆

以作为抗凝剂的 EDTA 或柠檬酸盐处理的血样可以用于制备血浆。还可以使用由 ccfDNA 稳定化采血管制备的血浆。根据制造商的规范，生成血浆。

在使用 EDTA 或柠檬酸盐作为抗凝剂时，建议在献血之后立即执行血浆分离。

对于特定的下游应用，可能需要从囊泡中排除核酸或者将其最少化。对于此类情况，建议在初始生成血浆之后，在室温 (15 - 25°C) 下，以 16,000 x g 执行高速离心步骤 10 分钟。

在采集和离心处理之后，血浆可以在室温下最多存储 7 天，在 2 - 8°C 的温度下存储最多 14 天。为了存放更长时间，建议在 -20°C 或 -80°C 的温度下冷冻等份样本。冷冻的血浆不得融化超过三次。反复冷冻解冻会导致蛋白变性和沉淀，从而导致循环游离核酸产量减少。如果在样本中可见冷凝蛋白，请在室温 (15 - 25°C) 下，以 6,800 x g 进行离心处理 3 分钟，然后将上清液转移到辅助样本试管而不扰动颗粒（请参阅实验器具清单，可以在 www.qiagen.com 产品页面的“资源”标签下找到此清单）。立即开始执行纯化操作程序。

人类尿液

由于采尿之后，循环游离 DNA 迅速退化，强烈建议立即对尿样进行稳定化。

稳定化的人类尿液

稳定化的尿液可以在室温 (15 - 25°C) 或 2 - 8°C 的温度下存储最多 7 天。为了存放更长时间，建议在 -30 至 -15°C 或 -90 至 -65°C 的温度下冷冻等份样本。

稳定化尿样无需进行样本预处理。在稳定化之后，建议在提取循环游离 DNA 之前，在室温 (15 - 25°C) 下，以低速 (1900 x g) 对尿样进行离心处理 10 分钟以去除细胞。如果离心之后，在上清液中可见沉淀物，请通过水浴将样本加热到 25°C 以溶解沉淀物。在开始运行之前，将稳定化尿样转移到辅助样本试管，然后将此试管装入样本容器中（请参阅实验器具清单，可以在 www.qiagen.com 产品页面的“资源”标签下找到此清单）。

“非稳定化”的人类尿液

在启动需要 Buffer ATL 的操作规程之前，检查 Buffer ATL 中是否已形成沉淀物。如有必要，通过水浴，将其加热到 70°C，轻轻搅动，使其溶解。从 Buffer ATL 表面吸取气泡。

提示： Buffer ATL (Buffer ATL, 4 x 50 ml, 目录编号 939016) 不是 QIASymphony DSP Circulating DNA Kit 的组件，必须单独订购。

建议在采集尿样之后，立即在室温 (15 - 25°C) 下，以低速 (1900 x g) 对尿样进行离心处理 10 分钟以去除细胞。非稳定化尿样需要进行样本预处理。

重要提示： 在开始预处理之前，应该使样本与室温 (15 - 25°C) 相平衡。

重要提示：应该在采集尿样后 4 小时内执行离心处理和预处理。

- 分别将 2500 μ l 尿液 (circDNA_2000_DSP) 或 4500 μ l 尿液 (circDNA_4000_DSP) 与 250 μ l 或 450 μ l Buffer ATL 相混合。
- 在室温 (15 - 25°C) 下对样本进行温育 1 小时。
- 在室温 (15 - 25°C) 下，以 1900 x g 对样本进行离心处理 10 分钟。
如果离心之后，在上清液中可见沉淀物，请通过水浴将样本加温到 25°C 以溶解沉淀物。
- 将上清液转移到辅助样本试管，然后将此试管装入样本容器中（请参阅实验器具清单，可以在 www.qiagen.com 产品页面的“资源”标签下找到此清单）

重要提示：循环游离 DNA 的稳定性和完整性在非稳定化尿液中很有限。建议每次运行 QIAasymphony 时最多加载 24 份样本中的一批，将尿样的搭载时间最短化。

干扰物质

具有高浓度丙球蛋白 (> 30 g/l) 的血浆样本可能导致循环游离 DNA 的恢复减少。

修订历史

日期	更改
V2, R1 2020 年 12 月	初次发布。

有关最新许可信息以及产品特定免责声明，请参阅相应的 QIAGEN 试剂盒说明书或用户手册。QIAGEN 试剂盒手册和用户手册可从 www.qiagen.com 或 QIAGEN 技术服务部门以及您当地的经销商联系处取得。

商标：QIAGEN®、Sample to Insight®、QIASymphony®（QIAGEN 集团）。本文中使用的注册名称、商标等，即便未专门标记，也不得视为不受法律保护。

12/2020 HB-2309-S02-001 © 2020 QIAGEN，保留所有权利。

订购: www.qiagen.com/shop | 技术支持: support.qiagen.com | 网站 www.qiagen.com