

2017年2月

# QIAsymphony<sup>®</sup> DSP

## Circulating DNA試薬組

性能特徴

IVD

CE

MAT<sub>937556</sub>

---

# 目錄

性能特徵.....	4
基本性能.....	4
運作精確度.....	6
2 ml和4 ml實驗流程的等效性能.....	6
粒度分佈.....	7
沖提液穩定性.....	9

---

QIAasymphony DSP Circulating DNA系統是能即用型的體外檢測系統，可對來自人體血漿或尿液中的循環游離核酸做定性純化。

QIAasymphony DSP Circulating DNA試藥組搭配QIAasymphony SP純化儀使用效果更佳。

QIAasymphony DSP Circulating DNA試藥組中提供的試劑可全自動地並同時地純化大量包括人類血漿（如EDTA或檸檬酸抗凝血處理，以及來自ccfDNA穩定血液收集管中血漿）和人類尿液（穩定化和未穩定化）的ccfDNA。由於各採血管的表現效能尚未完全統計，必須由用戶自行驗證。

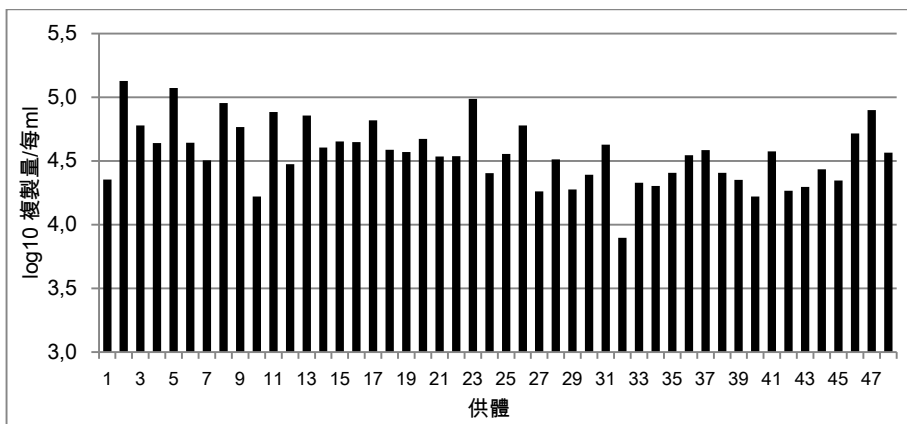
純化後的ccfDNA可廣泛運用於後續檢測。QIAasymphony SP能執行所有純化步驟。單次操作可處理24批次共多達96個樣本。尿液樣本需人工進行樣本預處理。

# 性能特徵

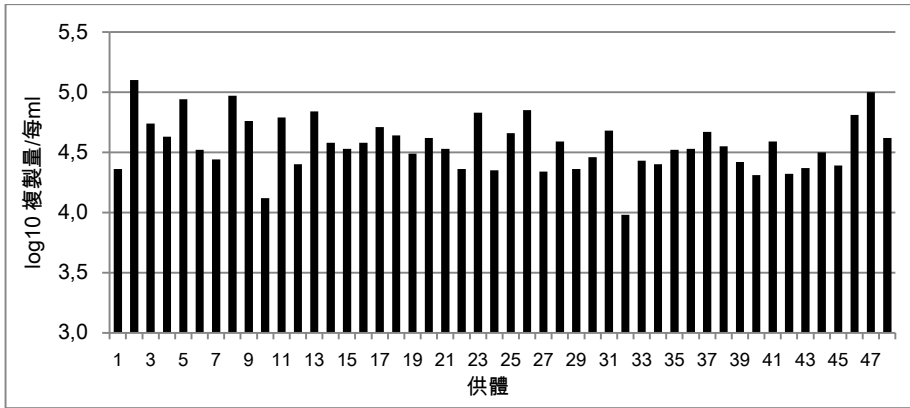
## 基本性能

QIASymphony DSP Circulating DNA 試藥組的基本性能經由48個獨立供體提供的4 ml穩定化血漿、4 ml EDTA處理的血漿以及4 ml穩定化尿液中萃取出來的ccfDNA所檢驗。以即時-聚合酶連鎖反應測定18S核糖體RNA編碼序列，來定義ccfDNA產量。

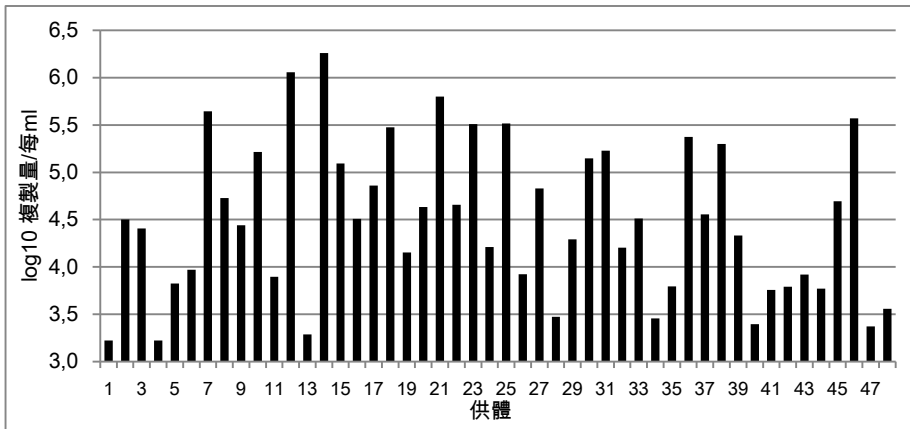
在相同量的樣本中，其產量差異 ( $\log_{10}$  份/每毫升) 在圖1 (4 毫升穩定化血漿)、圖2 (4 毫升EDTA處理的血漿) 以及圖3 (4 毫升穩定化尿液) 的對比中反應出ccfDNA的濃度與供給者間強烈的相關性。穩定血漿與EDTA處理血漿之間ccfDNA的產量差異表明在48個獨立供體的樣本中使用兩種不同種類的BTCs 之間高度相關 (見圖1和圖2)。



**圖1. 來自48個獨立供體血漿的ccfDNA產量：ccfDNA穩定化血漿收集管。**將來自48個獨立供體的捐贈血漿放在ccfDNA穩定化血漿收集管中。用QIASymphony全自動化循環核酸診斷製備試藥組從4 毫升血漿萃取出ccfDNA，并以即時聚合酶連鎖反應測定18S核糖體RNA編碼序列，以此計算ccfDNA產量。結果以每單位血漿輸入量所含目標複製量來計算。



**圖2. 來自48個獨立供體血漿中所含ccDNA產量：EDTA處理血漿收集管。**將來自48個獨立供體的捐贈血漿放在EDTA處理血漿收集管。用QIAAsymphony全自動化循環核酸診斷製備試藥組從4 毫升血漿萃取出ccfDNA，并以即時聚合酶連鎖反應測定18S核糖體RNA編碼序列，以此計算ccfDNA產量。結果以每單位血漿輸入量所含目標複製量來計算。



**圖3. 來自48個獨立供體血漿的ccDNA產量。**來自48個獨立供體的尿液在收集後立刻穩定化。以QIAAsymphony全自動化循環核酸診斷製備試藥組從4 毫升尿液萃取出來的ccfDNA，以內部-即時聚合酶連鎖反應測定18S核糖體RNA編碼序列，來定義ccfDNA產量。結果以每單位血漿輸入量所含目標複製量來計算。

## 運作精確度

測定經EDTA處理的血漿中萃取人類ccfDNA的變異係數 ( CV )。用即時聚合酶連鎖反應測定18S核糖體RNA編碼序列，來定義ccfDNA產量以此作精確度分析，總共進行10次QIAasymphony操作，每次操作4個批次 ( 每個批次進行8個複製 )。其精確度結果列於表1。

**表1。精確度預估分析**

精確度	變異係數 (%)
批次間	11.67
重複性	13.14
中間精確度	13.14
總精確度	14.12

## 2 ml和4 ml實驗流程的等效性能

以QIAasymphony DSP Circulating DNA試藥組，利用來自經由EDTA處理的人類血漿庫萃取內源性ccfDNA，用來評估2 ml和4 ml樣本輸入量的等效性能。總共進行8次QIAasymphony運作，每次4個批次，每個批次進行8次複製。以即時聚合酶連鎖反應測定18S核糖體RNA編碼序列，來定義QIAasymphony DSP Circulating DNA試藥組的線性範圍(圖4)。2 ml和4 ml實驗流程的差別比例列於表2。( 參考實驗流程為4 ml樣本輸入 )

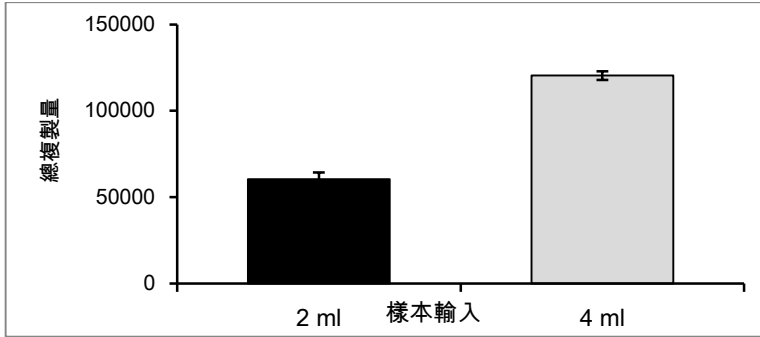


圖4. 2 ml和4 ml實驗流程的等效性能ccDNA實驗流程的線性範圍以2 ml和4 ml實驗流程來定義。以即時聚合酶連鎖反應測定18S核醣體RNA編碼序列，來定義ccfDNA產量。結果以每單位血漿輸入量所含目標複製量來計算。

表2. 2 ml與4 ml實驗流程的差異 ( 樣本數=256 )

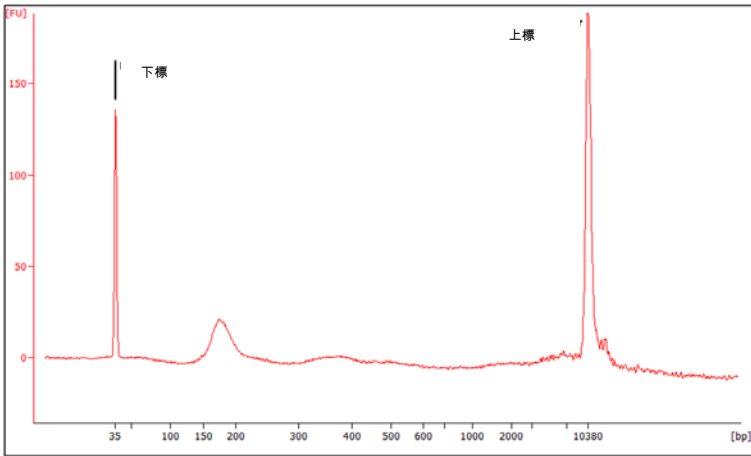
參數	數值
計算複製量/ml的估算幾何平均值	1.01
低於95%信賴界線	0.92
高於95%信賴界線	1.11

2 ml與4 ml樣本輸入量的實驗流程是等價的，以計算每ml樣本中的複製量。

## 粒度分佈

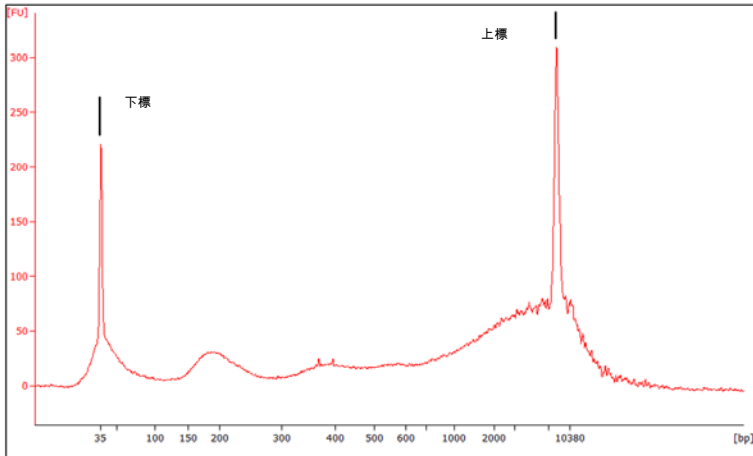
為評估樣品輸出的粒度分佈，用QIASymphony 全自動化循環核酸診斷製備試藥組萃取來自4毫升輸入樣本中的ccfDNA，以75微升沖提，取1微升使用Agilent 2100生物分析儀搭配Agilent 高靈敏度DNA晶片，進行粒度分析。總共進行5次複製。圖5表示血漿中具代表性的核酸圖，圖6表示穩定尿液中具代表性的核酸圖。

圖5中的血漿電泳圖顯示在~160鹼基對中有明顯的峰值，其範圍為145至196鹼基對，落在核小體中組蛋白所纏繞的核酸長度範圍內。圖6中的血漿電泳圖顯示在~160鹼基對中有較寬的峰，其範圍為145至250鹼基對。此外，尿液中有第二個峰出現在範圍~20至100鹼基對（在下標峰的水平位置處），表示有較高程度的ccfDNA破裂。此外，圖6顯示有大量~2千鹼基對的核酸片段。這類型的基因片段在尿液樣本中常見，可能是因為基因片段由細胞釋放到尿液中。



**圖5. 血漿ccfDNA的粒度分佈 (生物分析儀檔案)** 以QIAAsymphony DSP Circulating DNA試藥組萃取來自4 ml樣本輸入的ccfDNA，取1  $\mu$ l使用Agilent 高靈敏度DNA晶片分析。X軸：鹼基對大小 (鹼基對)；Y軸：螢光量 (FU)。



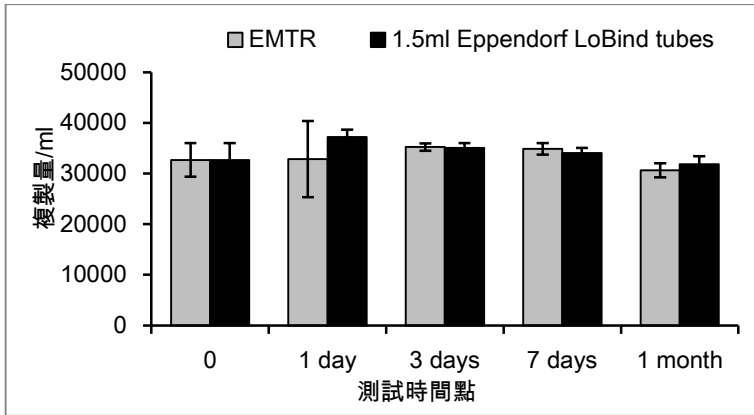


**圖6. 尿液ccfDNA的粒度分佈 (生物分析儀檔案)** 以QIASymphony DSP Circulating DNA試藥組萃取出來自4 ml樣本輸入的ccfDNA，取1  $\mu$ l使用Agilent 高靈敏度DNA晶片分析。X軸：鹼基對大小 (鹼基對)；Y軸：螢光量 (FU)。

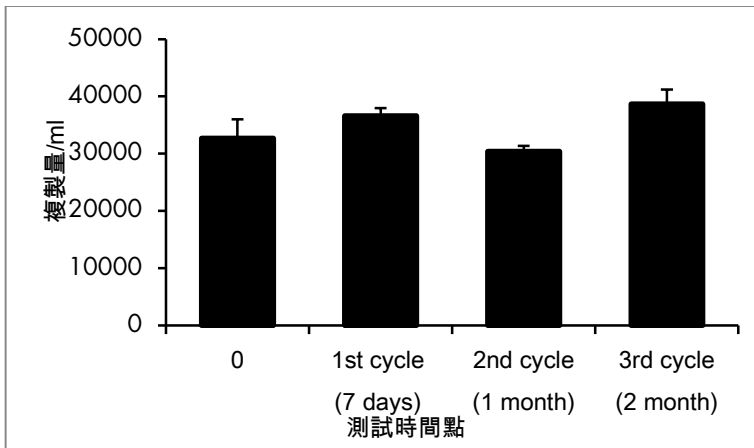
## 沖提液穩定性

以QIASymphony DSP Circulating DNA試藥組，利用來自EDTA處理的人類血漿庫萃取ccfDNA，用來評估沖提液穩定性。沖提液以兩種不同規格儲存：QIAGEN EMTR (沖提微量管 C L 96；產品編號：19588)與1.5 毫升Eppendorf® LoBind 安全旋蓋管。分析此經8次複製的沖提液。以即時聚合酶連鎖反應測定18S核糖體RNA編碼序列，來評估沖提液中核酸的穩定性。

在2–8 °C 的環境下，核酸穩定性可保持不受影響長達一個月，而其中情況可能會根據儲存條件有所不同 (圖7)。LoBind管中核酸儲存於 –15 to –30°C，核酸穩定性不受影響，即使在經歷7天內3次反覆解凍或儲存時間長達1到2個月 (圖8)。



**圖7. 在2種不同條件的試管中，儲存在2-8°C的條件下，ccfDNA的穩定性。**用QIAsymphony DSP Circulating DNA試藥組萃取經由EDTA處理過的人類血漿中的ccfDNA，並在不同時間點儲存到2-8°C環境中。以即時聚合酶連鎖反應測定18S核糖體RNA編碼序列，來定義ccfDNA產量。結果以每單位血漿輸入量所含目標複製量來計算。



**圖8. 儲存在-15 to -30°C的ccfDNA穩定性，包含3次冷凍解凍的過程。**以QIAsymphony DSP Circulating DNA試藥組萃取經由EDTA處理的人類血漿中的ccfDNA，用1.5 ml Eppendorf LoBind管，保存在-15 to -30°C。ccfDNA的產量在3個不同的測試時間點在經過3次冷凍解凍的沖提液中3次冷凍解凍的沖提液。

---

以內部即時聚合酶連鎖反應測定18S核醣體RNA編碼序列，來定義ccfDNA產量。結果以每單位血漿輸入量所含目標複製量來計算。

有關最新的認證訊息和特定產品免責聲明，請參閱相對應的QIAGEN試藥組手冊或用戶手冊。透過[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 即可獲取QIAGEN試藥組手冊和QIASymphony DSP Circulating DNA 試藥組，也可向QIAGEN 技術服務或您當地的經銷商索取。

商標：QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Eppendorf® (Eppendorf AG).  
本文件中所使用的登記名稱，商標等，即使未特別標記，也受法律保護。

02/2017 HB-2309-S01-001  
© 2017 QIAGEN, all rights reserved





