



2022 年 6 月

QIAamp[®] DSP Virus Kit 使用说明 (手册)



第 2 版



供体外诊断使用

供与 QIAamp[®] DSP Virus Kit 配套使用



60704



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 德国



1127541ZHCN

目录

预期用途	4
预期用户	4
描述与原理	5
使用 QIAGEN Protease (QP) 进行裂解	5
吸附到 QIAamp MinElute 膜	5
去除残留污染物	5
病毒核酸的洗脱	5
病毒核酸的产量和品质	6
内部对照品的添加	7
总结与说明	9
提供的材料	10
试剂盒内容物	10
试剂盒组件	11
使用者应自备的材料	12
其他试剂	12
耗材	12
设备	12
警告和预防措施	13
安全信息	13
紧急情况应对信息	14
预防措施	15
处置	16

试剂的存放和处理	17
使用中稳定性	17
标本采集、存储和处理	18
重要事项	19
前期重要工作	19
QIAamp MinElute 柱的处理	20
制备试剂和缓冲液	20
设置 QIAvac 24 Plus 真空系统	24
方案：从血浆和血清中分离病毒核酸并进行纯化	26
质量控制	29
局限性	30
性能特点	31
故障排除向导	32
符号	35
附录	38
订购信息	39
文档修订历史	40

预期用途

QIAamp® DSP Virus Kit 用于从人血浆和血清样本中手动分离纯化病毒核酸。

QIAamp DSP Virus Kit 利用二氧化硅膜技术（QIAamp 技术）从人血浆或血清样本中分离纯化病毒核酸。

该产品旨在供体外诊断使用以及供专业用户使用，例如，在分子生物技术方面经过培训的技术员和医师。

预期用户

该产品旨在供专业用户使用，例如，在分子生物技术方面经过培训的技术员和医师。

描述与原理

QIAamp DSP 病毒程序包括 4 个步骤（溶解、结合、洗涤和洗脱），使用 QIAamp MinElute® 柱以及真空歧管和标准微型离心机执行。该程序设计用于最大限度降低样本间交叉污染的可能性，以及实现潜在感染性样本的安全处理。这个简单的 QIAamp DSP 病毒程序适合同时处理多个样本。QIAamp DSP Virus Kit 可用于从多种 RNA 和 DNA 病毒中分离病毒 RNA 和 DNA。但对每种病毒的性能特点尚未得到确定，必须由用户验证。

使用 QIAGEN Protease (QP) 进行裂解

样本是在变性状态下，在温度上升的环境中溶解的。裂解是在拥有 QIAGEN Protease (QP) 和裂解缓冲液(AL) 的情况下执行的，这两者共同确保核糖核酸酶失活。

吸附到 QIAamp MinElute 膜

通过添加乙醇，实现病毒 RNA 和 DNA 与膜的最优结合来调整结合条件。之后会将裂解物转移到 QIAamp MinElute 柱上，由于溶解物是通过真空压力分离抽取的，所以硅胶薄膜会吸收病毒核酸。盐和 pH 条件确保了可抑制 PCR 以及其他下游酶反应的蛋白以及其他污染物不会留在 QIAamp MinElute 膜上。

去除残留污染物

在 3 个冲洗步骤期间，核酸仍与膜结合，同时高效地冲洗掉污染物。

病毒核酸的洗脱

通过一个步骤在已适应环境温度的洗脱缓冲液 (AVE) 中从 QIAamp MinElute 柱薄膜上洗脱高纯度病毒 RNA 和 DNA。QIAamp MinElute 柱允许的洗脱容量为 20 μ l 或 60 μ l。对于起始量较小的下游应用（例如，一些 PCR 和 RT-PCR 检测），使用在 20 μ l 洗脱缓冲液 (AVE) 中洗脱的病毒核酸可以提高检测灵敏度。

对于起始量较大的下游应用，洗脱容量最多可增加到 60 μl 。但增加洗脱容量会降低洗脱液中核酸的浓度。

由于离心后剩余的洗脱缓冲液被离心柱薄膜保留，回收的洗脱液量可能低于施加到柱上的洗脱缓冲液的体积。此外，回收的洗脱液量取决于样本的性质。

将洗脱的病毒核酸收集在洗脱管 (ET) 中，可在 2 - 8°C 下存放最长 24 小时。对于超过 24 小时的长期储存，我们建议将纯化的核酸储存在 - 20°C 下。

提示：洗脱液稳定性高度依赖于各种因素，并与特定的下游应用相关。已经针对 QIAamp DSP Virus Kit 与示例性下游应用联用进行了评价。用户应负责查阅在其实验室中使用的特定下游应用的使用说明和/或验证整个工作流程，以建立适当的存储条件。

病毒核酸的产量和品质

从生物样本中分离的病毒核酸产量通常低于 1 μg 。建议使用定量扩增法来确定产量。定量使用 QIAamp DSP Virus 方案分离的核酸时，切记样本中的载体 RNA 明显多于病毒 RNA。

载体 RNA 的作用有两个：第一，它能增强病毒核酸附着到 QIAamp 硅胶膜的效果，尤其是在样本中的目标分子非常少时。第二，添加大量的载体 RNA 可以降低病毒 RNA 降解的几率，出现这种罕见的情况时，核糖核酸酶分子可避开裂解缓冲液 (AL) 中高离液盐和清洁剂对其的变性。如果未将载体 RNA 添加到裂解缓冲液 (AL)，则可能会导致病毒 RNA 或 DNA 回收减少。

一些商用下游检测的内部对照品中也包含载体 RNA。在这些情况下，请参阅下游检测制造商的相关使用说明。

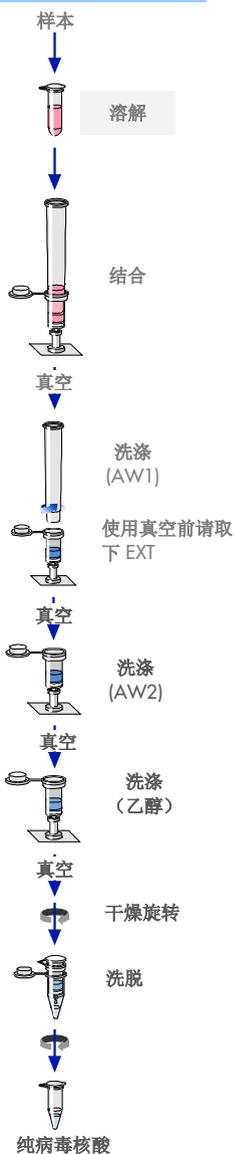
不同扩增系统的效率不一，具体取决于反应液中存在的核酸总量。此试剂盒中的洗脱液同时包含病毒核酸和载体 RNA，并且载体 RNA 的量远超病毒核酸的量。因此，应考虑添加的载体 RNA 量计算应向下游扩增添加多少洗脱液。要让扩增反应具有最高灵敏度，可能需要调整添加到裂解缓冲液 (AL) 中的载体 RNA 量。

内部对照品的添加

将 QIAamp DSP Virus 方案与市售扩增系统结合使用可能需要在纯化程序中引入内部对照品。内部对照品 RNA 或 DNA 应与载体 RNA 一并添加到裂解缓冲液中。为获得最优纯化效率，内部对照品分子的长度不应超过 200 个核苷酸基，因为无法高效回收较小分子。

请参阅制造商说明以确定最优浓度。不使用建议的浓度可能会降低扩增效率。

QIAamp DSP 病毒程序



开始前请仔细阅读方案 (第 26 页)。

在 LT 中, 添加 75 μ l QP、500 μ l 样本和 500 μ l AL。

混合 15 秒。

在 56° C 环境下培养 15 分钟。

添加 600 μ l 乙醇。

混合 15 秒。

在室温 (15 - 25° C) 环境下培养 5 分钟。

将裂解物传送到连接了 EXT 的 QIAamp MinElute 柱。

添加 600 μ l 重新组成的 AW1。

取下 EXT。

添加 750 μ l 重新组成的 AW2。

添加 750 μ l 乙醇。

将 QIAamp MinElute 柱放到 WT 中。

以 14,000 rpm 的速度离心 1 分钟。

将 QIAamp MinElute 柱放到 WT 中。

在 56° C 环境下培养 3 分钟。

将 QIAamp MinElute 柱放到 ET 中。

添加 20 μ l 或 60 μ l AVE。

在室温下培养 3 分钟。

以 14,000 rpm 的速度离心 1 分钟。

总结与说明

QIAamp DSP Virus Kit 使用成熟的技术同时分离和纯化病毒 DNA 和 RNA。QIAamp DSP 病毒程序将硅胶膜的选择性附着属性与最低洗脱容量 20 μ l 或 60 μ l 结合起来。

该程序适用于血浆或血清；两者均可能包含柠檬酸盐或 EDTA。样本可以是新鲜、冻干或冷冻样本，前提是其冷冻并解冻次数未超过一次。

对于真空程序，该操作方案需用到可产生约 800 - 900 mbar 真空压力的真空歧管（如与 QIAvac Connecting System 配套的 QIAvac 24 Plus）和真空泵（如 QIAGEN® Vacuum Pump）。为了能够方便地进行真空压力监控和真空释放，还应采用 Vacuum Regulator（QIAvac Connecting System 中的部件）。

该程序可用于从多种 RNA 和 DNA 病毒中分离病毒 RNA 和 DNA。该程序设计用于避免样本间交叉污染，以及实现潜在感染性样本的安全处理。该程序非常适合同时处理多个样本。病毒核酸在洗脱缓冲液 (AVE) 中洗脱，可随时在扩增反应中使用，或在 -20°C 下存放以供日后使用。

提供的材料

试剂盒内容物

QIAamp DSP Virus				60704	
目录编号				50	
制备数					
QIAamp MinElute®	QIAamp MinElute columns with Wash Tube (WT) (带冲洗管 (WT) 的 QIAamp MinElute 柱) (2 ml)	COL		50	
EXT	Column Extenders (离心柱扩展器) (3 ml)	COL	EXT	50	
ET	Elution Tubes (洗脱管) (1.5 ml)	ELU	TUBE	50	
VC	VacConnectors (离心管连接器)	VAC	CON	50	
LT	Lysis Tubes (裂解管) (2 ml)	LYS	TUBE	50	
WT	Wash Tubes (冲洗管) (WT) (2 ml)	WASH	TUBE	50	
AL	Lysis Buffer (裂解缓冲液) *	LYS	BUF	33 ml	
AW1	Wash Buffer 1 (AW1)* (洗涤缓冲液 1 (AW1)) * (浓缩液)	WASH	BUF	1 CON	19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (AW2) [†] (洗涤缓冲液 2 (AW2)) (浓缩液)	WASH	BUF	2 CON	13 ml
AVE	Elution Buffer [‡] (洗脱缓冲液) (紫帽)	ELU	BUF	4 x 2 ml	
PS	Protease Solvent [†] (蛋白酶溶剂)	QPROT	SOLV	4.4 ml	
Carrier	Carrier RNA (载体 RNA) (红帽)	CAR	RNA	310	
QP	QIAGEN® Protease [†] (QIAGEN® 蛋白酶)	QPROT		1 小瓶	
-	使用说明 (手册)			1	

* 含有盐酸胍。与含有漂白剂的消毒剂不相容。有关安全信息请参阅第 13 页。

[†] 含作为防腐剂的叠氮化钠

[‡] 再悬浮量 4.4 ml

试剂盒组件

含有活性成分的试剂盒主要组件说明如下。

试剂	活性成分	浓度 (w/w) [%]
QIAGEN Protease (QP)	枯草杆菌蛋白酶	≥90 至 ≤100
AL	盐酸胍	≥30 至 <50
	马来酸	≥0.1 至 <1
AWI	盐酸胍	≥50 至 <70

使用者应自备的材料

其他试剂

- 乙醇 (96 - 100%)*

耗材

- 移液管 †和移液器吸头（为了防止交叉污染，我们强烈建议使用带有气溶胶屏障的移液器吸头）
- 一次性手套

设备

- 加热块†，用于在 56°C 下裂解样本（适用于 2.0 ml 微型试管）
- 微型离心机†
- 量筒 (50 ml)
- 涡旋器
- QIAvac 24 Plus 真空系统（目录编号 19413）或等同产品†

*请勿使用变性乙醇，此类乙醇中含有甲醇或甲乙酮等其他物质。

†使用前，务必根据制造商的建议对仪器进行检查和校准。

警告和预防措施

请注意，将用户和/或患者发生的明确与设备有关的严重事件报告给制造商和/或其授权代表和监管机构时，您可能需要查阅当地法规。

供体外诊断使用。

在使用此试剂盒之前，请认真阅读所有说明。

安全信息

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。有关更多信息，请参阅相关安全数据表 (Safety Data Sheet, SDS)。在 www.qiagen.com/safety 上可在线获得 PDF 格式的 SDS，您可以查找、查看和打印每个 QIAGEN 试剂盒及试剂盒组成部件的 SDS。



警示：不得将漂白剂或酸性溶液添加到样本制备废物中。

- 裂解缓冲液 (AL) 和洗涤缓冲液 1 (AW1) 中含有盐酸胍，与漂白剂组合使用时，会形成高活性化合物。如果含有这些缓冲液的液体泼洒出来，请使用合适的实验室洗涤剂和水进行清理。如果泼洒的液体中含有潜在传染性病原体，请首先使用实验室洗涤剂和水清洁受影响区域，然后使用 1% (v/v) 次氯酸钠进行清洁。
- 如果缓冲液瓶损坏或泄漏，在处理缓冲液瓶时请戴上手套和护目镜，防止人身伤害或伤及他人。

- QIAGEN 尚未测试 QIAamp DSP 病毒程序产生的废液中是否有残留的感染性物质。因此，在使用本产品时应遵照处理潜在感染性人类来源材料的通用预防措施（手套、实验工作服和护目镜），必须将废液视作感染性物质，并根据当地的安全法规对其进行处理。
- 标本和样本均具有潜在传染性。样本及检测废物的处理应遵循当地安全流程。

紧急情况应对信息

CHEMTREC

美国和加拿大 1-800-424-9300

美国和加拿大以外 +1 703-527-3887

预防措施

以下危险和预防声明适用于 QIAamp DSP Virus Kit 的组件。

Lysis Buffer (AL)



含有盐酸胍、马来酸。警告！如果吞食或吸入，可能有害。导致皮肤瘙痒。可能引发过敏性皮肤反应。导致严重眼刺激。使用防护手套/防护衣/护目镜/面部护具。如果您感觉不适，请呼叫毒物中心或者医生/内科医师。如出现皮肤刺激或皮疹：获取医疗建议/关注。脱掉污染的衣物并在再次使用前洗涤。将其中内容物/容器交给获批的废物处理厂处理。

Wash Buffer 1 (AW1)



含有盐酸胍。警告！吞食或吸入有害。导致皮肤瘙痒。导致严重眼刺激。使用防护手套/防护衣/护目镜/面部护具。脱掉污染的衣物并在再次使用前洗涤。将其中内容物/容器交给获批的废物处理厂处理。

QIAGEN Protease (QP)



含有枯草杆菌蛋白酶。危险！吞食有害。导致皮肤瘙痒。导致严重眼部损伤。如果吸入，可能导致过敏、哮喘症状或者呼吸困难。可能导致呼吸系统不适。避免吸入灰尘/烟尘/煤气/雾气/蒸汽/喷雾/喷剂。使用防护手套/防护衣/护目镜/面部护具。佩戴呼吸防护用品。如果入眼：用水小心地冲洗几分钟。摘下隐形眼镜（如果有且容易摘下），继续冲洗。如果已接触或担心接触：立即呼叫毒物中心或者医生/内科医师。请将人员移到空气新鲜的地方，保持舒适顺畅的呼吸。

处置

废弃物包含样本和试剂。废弃物中可能含有有毒或传染性物质，必须妥善处置。有关正确的处理程序，请参见当地的安全法规。

有关更多信息，请参阅相关安全数据表 (Safety Data Sheet, SDS)。 www.qiagen.com/safety 在线提供这些信息的 PDF 格式。您可以在该网站中查找、浏览和打印每一种 QIAGEN 试剂盒及其组件的安全数据表 (Safety Data Sheets, SDS)。

试剂的存放和处理

应留意试剂盒和各组件标签上的失效日期和存储条件。请勿使用过期或储存不当的组件。

QIAamp MinElute 柱应在到达后存放在 2 - 8°C 环境中。如果存放得当，QIAamp MinElute 柱可在试剂盒箱上的失效日期前保持稳定。

提示：为确保不同试剂盒中的试剂盒组件不会混淆，请在 QIAamp MinElute 柱上贴上相应试剂盒批号的标签。

所有的缓冲液可在试剂盒箱上的失效日期前存放于室温 (15 - 25°C) 环境下。

冻干的载体 RNA 可在试剂盒包装箱上的失效日期前存放于室温环境。

冻干的 QIAGEN Protease (QP) 可在失效日期前存放于室温环境而不会影响性能。

使用中稳定性

载体 RNA 只能溶解于洗脱缓冲液 (AVE)；应根据第 21 页所述立即将溶解的载体 RNA 添加到裂解缓冲液 (AL) 中。该溶液应该是新制备的，最多可在 2 - 8°C 环境下稳定存放 48 小时。洗脱缓冲液 (AVE) 中溶解的载体 RNA 的未使用部分应在 - 20°C 环境下等分并冷冻。

在 Protease Solvent (PS) 中重组的 QIAGEN Protease (QP) 在 2 - 8°C 环境下最多可稳定存放 1 年，但仅限失效日期前。应避免在室温下长时间存放 QIAGEN Protease (QP) 储备溶液。

重组洗涤缓冲液 1 (AW1) 和重组洗涤缓冲液 2 (AW2) 在室温下最多可稳定存放 1 年，但仅限试剂盒箱上的失效日期前。

标本采集、存储和处理

提示：样本稳定性高度依赖于各种因素，并与特定的下游应用相关。已通过与示例性下游应用联用进行过评价。用户应负责查阅在其实验室中使用的特定下游应用的使用说明和/或验证整个工作流程，以建立适当的存储条件。

关于一般采集、运送和储存建议，请参阅经批准的 CLSI 指南 MM13-A “Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods（用于分子方法的标本采集、运送、制备和储存）”。此外，在样本制备、储存、运送，和一般处理期间，应遵循制造商对所选样本采集装置的说明。

对纯化程序进行了优化以用于人血浆和血清样本。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。样本可以是新鲜或冷冻样本，前提是其冷冻并解冻次数未超过一次。通过轻微搅动将冷冻样本解冻，以确保充分混合。

采集和离心后，可将血浆和血清存放在 2 - 8°C 环境下，最多可存放 6 小时。如要长期存放，建议将样本等分，然后在 -80°C 至 -20°C 环境下冷冻。不得多次融化冷冻的血浆或血清样本。反复冷冻解冻会导致蛋白变性和沉淀，从而导致病毒滴度下降，进而导致病毒核酸产量减少。此外，反复冷冻解冻过程中形成的冷沉淀会阻塞 QIAamp MinElute 柱薄膜。如果可以看到冷沉淀，则应以大约 6800 x g 离心 3 分钟，将其吸走。应在不干扰沉淀的情况下，立即吸入和处理透明上清液。立即开始执行纯化操作程序。在低 g 离心力条件下离心不会降低病毒滴度。

提示：根据 QIAamp DSP Virus Kit 的示例性干扰研究，并符合 ISO 20186-2:2019(E)，采血管中的肝素可能会影响分离的核酸纯度，并且可能携带污染到洗脱液中，从而在某些下游应用中产生抑制作用。因此，我们建议使用经 EDTA 或枸橼酸盐作为抗凝剂处理的血液样本。

重要事项

前期重要工作

- 收到试剂盒后，请检查试剂盒组件是否损坏。如果气泡包装或缓冲液瓶损坏，请联系 QIAGEN 技术服务部门或当地经销商。如果出现液体泼溅，请参阅“警告和预防措施”（第 13 页）。请勿使用损坏的试剂盒组件，因为使用这些组件可能会导致试剂盒性能不佳。
- 请务必使用无核糖核酸酶的设备。
- 两次液体转移之间，请务必更换移液器吸头。为最大限度减少交叉污染，我们建议使用气溶胶屏障吸头。
- 请务必使用一次性手套，并对其进行定期检查，确保未受到样本材料的污染。
- 如果手套受到污染，请将其丢弃；或者至少在执行完所有带有手套符号  的步骤后丢弃手套。
- 为最大限度减少交叉污染，一次只打开一个试管。
- 所有旋涡混合步骤完成后，对微量离心管进行短暂的离心分离，以去除盖子内的滴落物。
- 所有离心步骤都是在室温 (15 - 25°C) 环境下进行的。
- 用户应确保在整个操作步骤中保持样本的可追溯性。
- 请勿将其他试剂盒的组件与目前使用的试剂盒一起使用，除非其批次一致。
- 避免试剂盒试剂的微生物污染。
- 为尽量减少存在感染性的材料造成感染危险，我们建议在层流式气流条件下工作，直至样本裂解。
- 本程序提供了单个血浆或血清样本的处理说明。但是，在 QIAvac 24 Plus 真空系统上最多可同时处理 24 个样本。
- 该试剂盒只能由在体外诊断实验室实践方面接受过培训的人员使用。

QIAamp MinElute 柱的处理

由于核酸扩增技术灵敏度的缘故，在处理 QIAamp MinElute 柱时需要采取下列预防措施，以避免样本制备间的交叉污染：

- 小心地将样本或溶液用于 QIAamp MinElute 柱。将样本吸取到 QIAamp MinElute 柱内时不要弄湿柱的边缘。
- 两次液体转移之间，请务必更换所有移液器吸头。建议使用气溶胶屏障移液吸头。
- 避免移液吸头碰到 QIAamp MinElute 薄膜。
- 一次只打开一个 QIAamp MinElute 柱，并注意避免产生气溶胶。

制备试剂和缓冲液

制备 RNA

制备病毒 RNA 时，在程序手动步骤期间请快速工作，并阅读第 38 页的附录，然后再开始。

制备 QIAGEN Protease (QP)

将含有 4.4 ml 蛋白酶溶剂 (PS) 的试管内含物全部加入冻干的 QIAGEN Protease (QP) 试剂瓶，然后充分混合。为避免起泡沫，请多次翻转试剂瓶来进行混合。确保 QIAGEN Protease (QP) 完全溶解。



请勿将 QIAGEN Protease (QP) 直接添加到裂解缓冲液 (AL)*。

* 含有高离液盐。操作时采取适当的实验室安全措施并戴手套。与含有漂白剂的消毒剂不相容。有关安全信息请参阅第 14 页。

将载体 RNA 和内部对照品添加到裂解缓冲液 (AL)*

将 QIAamp DSP Virus Kit 与诊断扩增系统组合使用时，强烈建议使用内部对照品。有关详细信息，请参阅制造商的说明。应将内部对照品和重组载体 RNA 添加到裂解缓冲液 (AL)，然后翻转试管 10 次，将其轻轻混合均匀。为避免起泡沫，避免以旋涡方式混合。如果使用内部对照，则相应减少裂解缓冲液 (AL) 的体积（更多详情参见表 1）。

请参阅制造商的说明，以确定内部对照品的最佳浓度。不使用建议的浓度可能会产生错误的结果。计算要使用的正确内部对照品量时，请考虑样本的起始量和洗脱容量。请记住 QIAamp DSP Virus Kit 使用的起始样本容量为 500 µl。

如要制备载体 RNA 溶液，请将 310 µl 洗脱缓冲液 (AVE) 添加到含有 310 µg 冻干载体 RNA 的试管，以获得 1 µg/µl 的溶液。彻底稀释载体 RNA，将其分成方便规格的等份，然后将其存放在 -20°C 环境下。载体 RNA 的冷冻解冻过程不得超过 3 次。



载体 RNA 无法溶解于裂解缓冲液 (AL)。必须首先在洗脱缓冲液 (AVE) 中溶解载体 RNA，然后再添加到裂解缓冲液 (AL) 中。确保载体 RNA 完全溶解于正确量的洗脱缓冲液 (AVE) 中，然后再将其与裂解缓冲液 (AL) 混合。

通过从表 1 中选择要同时处理的样本数量来计算每个批次需要的裂解缓冲液 (AL)-载体 RNA 混合物量。容量是通过以下样本计算得出的：

$$n \times 0.55 \text{ ml} = y \text{ ml}$$

$$y \text{ ml} \times 11.2 \text{ µl/ml} = z \text{ µl}$$

其中：n = 要同时处理的样本数量

y = 计算得出的裂解缓冲液 (AL) 量

z = 要添加到裂解缓冲液 (AL) 的载体 RNA/洗脱缓冲液 (AVE) 量

将试管颠倒 10 次进行轻轻混合。为避免起泡沫，避免以旋涡方式混合。

表 1. QIAamp DSP 病毒程序所需的裂解缓冲液 (AL) 和载体 RNA/洗脱缓冲液 (AVE) 量*

样本数量	AL 量* (ml)	载体 RNA /AVE 量 (µl)	样本数量	AL 量* (ml)	载体 RNA /AVE 量 (µl)
1	0.55	6.2	13	7.15	80.0
2	1.10	12.3	14	7.70	86.0
3	1.65	18.5	15	8.25	92.4
4	2.20	24.6	16	8.80	98.6
5	2.75	30.8	17	9.35	104.7
6	3.30	37.0	18	9.90	110.9
7	3.85	43.1	19	10.45	117.0
8	4.40	49.3	20	11.00	123.2
9	4.95	55.0	21	11.55	129.4
10	5.50	61.6	22	12.10	135.5
11	6.05	67.8	23	12.65	141.7
12	6.60	73.9	24	13.20	147.8



样本制备程序针对每份样本 5.6 µg 载体 RNA 进行了优化。如果事实证明减少载体 RNA 更适合您的扩增系统，则仅将所需量的溶解载体 RNA 转移至含有裂解缓冲液 (AL) 的试管。对于每次制备需要的每微克载体 RNA，每毫升裂解缓冲液 (AL) 添加 5 µl Buffer AVE-溶解载体 RNA。必须为每种具体样本类型和下游检测验证每个样本使用少于 5.6 µg 的载体 RNA。

* 如果使用内部对照，则相应减少裂解缓冲液 (AL) 的体积。

制备洗涤缓冲液 1 (AW1)*

使用量筒将 25 ml 乙醇 (96 - 100%) 添加到含有 19 ml 洗涤缓冲液 1 (AW1) 浓缩液的试剂瓶中。勾选标签上的复选框，以指示乙醇已添加。将重组洗涤缓冲液 1 (AW1) 存放在室温 (15 - 25°C) 环境下。



请务必通过多次翻转试剂瓶的方式混合重组洗涤缓冲液 1 (AW1)，然后再开始程序。

制备洗涤缓冲液 2 (AW2)†

使用量筒将 30 ml 乙醇 (96 - 100%) 添加到含有 13 ml 洗涤缓冲液 2 (AW2) 浓缩液的试剂瓶中。勾选标签上的复选框，以指示乙醇已添加。将重组洗涤缓冲液 2 (AW2) 存放在室温 (15 - 25°C) 环境下。



请务必通过多次翻转试剂瓶的方式混合重组洗涤缓冲液 2 (AW2)，然后再开始程序。

制备洗脱缓冲液 (AVE)

随试剂盒提供了四管洗脱缓冲液 (AVE)。请勿让缓冲液受到核糖核酸酶污染。如果使用一个试剂盒执行不超过 4 次的纯化程序，我们建议在每个程序结束后丢弃洗脱缓冲液 (AVE) 试管。

* 含有高离液盐。操作时采取适当的实验室安全措施并戴手套。与含有漂白剂的消毒剂不相容。有关安全信息请参阅第 14 页。

† 含作为防腐剂的叠氮化钠。

设置 QIAvac 24 Plus 真空系统

确保正确设置离心柱扩展器 (EXT)、QIAamp MinElute 柱、VacConnector (VC) 和 VacValve (请参阅图 1)。

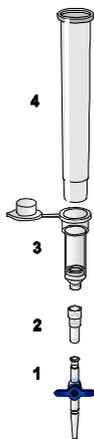


图 1. 组装 QIAamp DSP Virus Kit 的组件，以便对样本进行真空处理：

- | | |
|-----------------------|----------------------|
| 1. VacValve (随真空系统提供) | 3. QIAamp MinElute 柱 |
| 2. VacConnector (VC) | 4. 离心柱扩展器 (EXT) |

我们建议标记裂解管 (LT)、洗脱管 (ET)，和 QIAamp MinElute 柱，以便根据图 2 中的方案使用 QIAvac 24 Plus 真空系统，以避免样本混合。您可复印该图，并在上面标记样本名称。

日期： _____

操作员： _____

运行 ID： _____

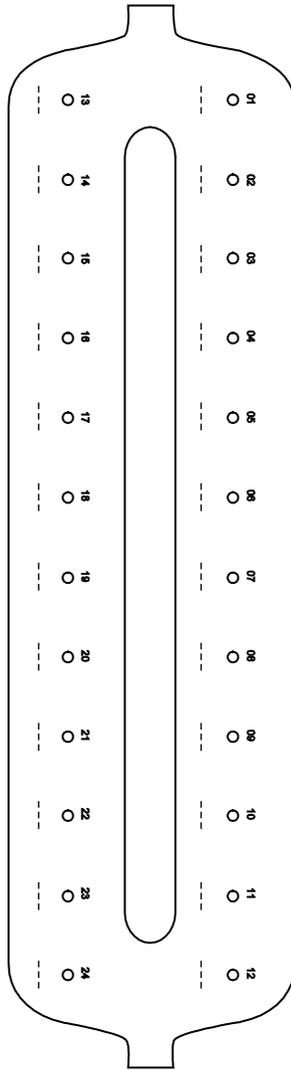


图 2. 用于 QIAvac 24 Plus 真空系统的裂解管 (LT)、洗脱管 (ET) 和 QIAamp MinElute 柱的标记方案。

方案：从血浆和血清中分离病毒核酸并进行纯化

从经过 EDTA 或柠檬酸盐处理的 500 μl 血浆和血清中分离病毒核酸并进行纯化。

开始之前的准备事项

- 将样本平衡到室温 (15 - 25°C) 并确保充分混合。
- 确保所有试剂和 QIAamp MinElute 柱（在封闭的泡罩中）均已平衡至室温。
- 将加热块设置为 56°C，以便在第 4 步和第 17 步中使用。
- 确保根据第 19 页的“前期重要工作”中的说明制备了洗涤缓冲液 1 (AW1)、洗涤缓冲液 2 (AW2) 和 QIAGEN Protease (QP)。
- 如果裂解缓冲液 (AL) 中形成了沉淀物，请通过在 56°C 下孵育将其溶解。
- 根据第 21 页的说明，将在洗脱缓冲液 (AVE) 或内部对照品中重组的载体 RNA 添加到裂解缓冲液 (AL)。
- 尽可能在每个程序中使用新鲜的洗脱缓冲液 (AVE)（提供 4 个试管）。
- 为尽量降低交叉污染，请将 VacConnector (VC) 插入真空系统的每个鲁尔转接器。
- QIAGEN 的质量控制程序采用了针对每个试剂盒批次的功能试剂盒发放测试。因此，请勿混合不同试剂盒批次的试剂，也不要混合不同试剂批次的单个试剂。
- 确保真空系统的废液瓶是空的，所有联轴器均正确连接。
- 有关真空系统操作的详细信息，尤其是维护方面，请参阅随附的手册。

程序

1. 将 75 μl QIAGEN Protease (QP) 吸入裂解管 (LT)。



使用前，请检查重组蛋白酶的有效期。

2. 将 500 μl 血浆或血清添加到裂解管 (LT)。

3. 将 500 μ l 裂解缓冲液 (AL) (含有 11.2 μ g/ml 载体 RNA) 添加到裂解管 (LT), 盖上盖子, 然后通过旋涡混合方式混合 ≥ 15 秒。

为确保有效裂解, 请务必将样本和裂解缓冲液 (AL) 充分混合, 以产生均匀的溶液。



裂解缓冲液 (AL) 含有内部对照品。由于裂解缓冲液 (AL) 的粘度很高, 所以请仔细移液, 确保添加正确量的裂解缓冲液 (AL)。



请勿将 QIAGEN Protease (QP) 直接添加到裂解缓冲液 (AL)。

4. 于 56°C 下孵育 15 分钟。
5. 以全速对裂解管 (LT) 离心 ≥ 5 秒, 去除盖子内的滴落物。



6. 更换手套, 然后小心地打开裂解管 (LT)。

7. 将 600 μ l 乙醇 (96 - 100%) 添加到裂解管 (LT), 盖上盖子, 然后通过旋涡混合的方式充分混合 ≥ 15 秒。在室温 (15 - 25°C) 环境下培养 5 分钟。
8. 以全速对裂解管 (LT) 离心 ≥ 5 秒, 去除盖子内的滴落物。
9. 将 QIAamp MinElute 柱插入真空系统上的 VacConnector (VC) (请见第 24 页的图 1)。将离心柱扩展器 (EXT) 插入打开的 QIAamp MinElute 柱。



保留冲洗管 (WT), 以便在第 16 步中进行干燥旋转。



10. 更换手套, 一次只打开一个试管。

11. 将第 7 步中的所有溶解物用于 QIAamp MinElute 柱的离心柱扩展器 (EXT), 同时不要弄湿边缘。
12. 打开真空泵。通过 QIAamp MinElute 柱吸入溶解物后, 请打开真空系统阀门, 然后释放真空。

如果同时处理多个 QIAamp MinElute 柱, 建议在溶解物通过后关闭每个柱的 VacValve, 以便缩短真空步骤的时间。



如果裂解物在 15 分钟后仍未完全通过薄膜, 请丢弃 QIAamp MinElute 柱, 然后使用新样本重复该程序。



应使用真空系统阀门快速释放真空压力。

13. 将 600 μl 洗涤缓冲液 1 (AW1) 用于 QIAamp MinElute 柱。小心地取下并丢弃离心柱扩展器 (EXT)，然后关闭真空系统的阀门。通过 QIAamp MinElute 柱吸入洗涤缓冲液 1 (AW1) 后，打开阀门，然后释放真空。



为避免交叉污染，请确保取下的离心柱扩展器 (EXT) 不会通过邻近的 QIAamp MinElute 柱。

14. 将 750 μl 洗涤缓冲液 2 (AW2) 用于 QIAamp MinElute 柱，同时不要弄湿边缘。让柱的盖子一直保持打开状态，然后关闭真空系统的阀门。通过 QIAamp MinElute 柱吸入洗涤缓冲液 2 (AW2) 后，打开阀门，然后释放真空。
15. 将 750 μl 乙醇 (96 - 100%) 用于 QIAamp MinElute 柱，同时不要弄湿边缘。让柱的盖子一直保持打开状态，然后关闭真空系统的阀门。通过 QIAamp MinElute 柱吸入乙醇后，打开阀门，然后释放真空。



使用气溶胶屏障移液吸头将乙醇用于 QIAamp MinElute 柱。

16. 盖上 QIAamp MinElute 柱的盖子，将其从真空系统取下，然后丢弃 VacConnector (VC)。将 QIAamp MinElute 柱放入第 9 步中保存的冲洗管 (WT)，然后以全速（大约 20,000 $\times g$ 或 14,000 rpm）离心 1 分钟，使薄膜完全干燥。丢弃装有滤液的冲洗管 (WT)。



省略干燥离心步骤可能会抑制下游检测。

17. 将 QIAamp MinElute 柱放到新的 Wash Tube (WT) 中，然后在盖子打开的情况下在 56°C 环境下培养 3 分钟，以蒸发所有剩余的液体。
18. 将 QIAamp MinElute 柱放到新的洗脱管 (ET) 中，然后丢弃冲洗管 (WT)。小心地打开 QIAamp MinElute 柱的盖子，然后将 20 μl 或 60 μl 洗脱缓冲液 (AVE)（取决于下游检测）放到薄膜的中心。



使用新的洗脱管以避免残留的洗涤缓冲液造成污染非常重要，因为这可能导致下游检测受到抑制。



当洗脱体积较小时，将洗脱缓冲液分配至薄膜的中心尤其重要，这样可以确保核酸和洗脱缓冲液的最佳回收。



洗脱体积可根据下游应用的要求进行调整。请记住，由于离心后剩余的洗脱缓冲液被离心柱薄膜保留，因此回收的洗脱液体积可能低于施加到柱上的洗脱缓冲液的体积。



确保洗脱缓冲液已适应室温环境。

19. 盖上盖子，然后在室温 (15 - 25°C) 环境下培养 ≥ 3 分钟。以全速 (大约 20,000 $\times g$ 或 14,000 rpm) 离心 1 分钟，以洗脱病毒核酸。



洗脱管盖的定向应与转子的旋转方向相反 (例如，如果转子顺时针旋转，则逆时针定向盖)。



执行本方案后，请遵循真空系统的维护程序 (更多详细信息请参阅真空系统随附的手册)。

质量控制

QIAGEN 利用经认证的整体质量管理体系，对每批 QIAamp DSP Virus Kit 的预定规格进行测试，以确保始终如一的产品品质。

局限性

系统性能已通过人血浆和血清样本纯化病毒核酸的性能评估研究确定。

用户负责针对其实验室中使用的、不在 QIAGEN 性能评估研究的涵盖范围内的任何操作流程验证系统性能。

为了将对于诊断结果的负面影响风险最小化，应该对下游应用进行足够的控制。产生的任何诊断结果必须结合其他临床或实验结论来读解。

性能特点

可以在 www.qiagen.com 产品页面“资源”标签下找到适用的性能特点。

故障排除向导

故障排除向导能帮助解决可能出现的任何问题。如需更多信息，请参见我们技术支持中心的常见问答网页：www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx。QIAGEN 技术服务部门的专家将非常乐意解答您有关本手册、样本和检测技术中信息和/或操作规程的问题。（如需进行信息交流，请登录 www.qiagen.com 以获取相关信息）。

意见和建议

一般处理

- a) 样本转移过程中移液器吸头堵塞
- 冷冻样本解冻后未充分混合。通过轻微搅动将冷冻样本解冻，以确保充分混合。反复冷冻解冻过程中形成的冷沉淀会阻塞 QIAamp MinElute 薄膜。如果目视可见冷沉淀，应以 16,000 x g 离心 5 分钟以澄清样本。
- b) QIAamp MinElute 柱堵塞
- 如果液流速度减慢，抽空的时间可延长。
- 或者，关闭 VacValve（如果使用），并小心地从 QIAamp MinElute 柱上卸下离心柱扩展器 - VacConnector - VacValve 套组，同时确保不丢失离心柱扩展器中的任何裂解物。
- 从真空歧管上取下 QIAamp MinElute 柱，将其放入 2 ml 冲洗管 (WT) 中，并全速离心，直到样本全部通过离心柱膜为止。更换装有剩余裂解物的离心柱扩展器 - VacConnector - VacValve 套组。打开真空泵，打开 VacValve，然后继续加载剩余的裂解物。
- 如果 QIAamp MinElute 柱继续堵塞，请重复上述步骤。
- 反复冷冻解冻过程中形成的冷沉淀会阻塞 QIAamp MinElute 柱薄膜。如果目视可见冷沉淀，应以 16,000 x g 离心 5 分钟以澄清样本。
- 裂解过程中使用冰冷乙醇有助于降低膜堵塞的风险。此外，必须按照上述正确顺序加入用于裂解的缓冲液。请勿将 QIAGEN Protease (QP) 直接添加到裂解缓冲液 (AL)。
- c) 裂解缓冲液中形成沉淀
- 通过在 56°C 下孵育裂解缓冲液(AL) 来溶解沉淀。
- d) 可变的洗脱体积
- 回收的洗脱液量取决于样本的性质。

意见和建议

由于离心后剩余的洗脱缓冲液被离心柱薄膜保留，回收的洗脱液量可能低于施加到柱上的洗脱缓冲液的体积。

将洗脱缓冲液放到薄膜的中心。当洗脱体积较小时，将洗脱缓冲液分配至薄膜的中心尤其重要，这样可以确保核酸和洗脱缓冲液的最佳回收。

- e) 未达到 ~800 至 ~900 mbar 的真空压力
- 真空歧管未完全关闭。打开真空后，按住真空歧管的盖子。检查真空压力是否达到。QIAvac 盖的垫圈存在磨损。目视检查歧管的密封件，必要时进行更换。
- VacValve 已磨损。摘除所有 VacValve，然后将 VacConnector 直接插入鲁尔接头。将 QIAamp MinElute 柱插入 VacConnector 中，关闭离心柱盖，然后打开真空。检查真空压力是否达到。必要时更换 VacValve。
- 与真空泵间的连接件泄漏。用鲁尔帽盖上所有鲁尔接头，并打开真空泵。在真空泵打开后（Vacuum Regulator 阀处于关闭状态），检查真空压力是否稳定。如有必要，更换泵和真空歧管之间的连接件。
- 如果真空压力仍未达到，请换用另一台功率更大的真空泵。

DNA 在下游反应中表现不佳

- a) 样本裂解不完全
- QIAGEN Protease (QP) 如果被长时间置于高温下，则可能会失去活性。使用新样本和新鲜的 QIAGEN Protease (QP) 重复纯化操作流程。
- 确保按照上述说明使用蛋白酶溶剂溶解 QIAGEN Protease (QP)。为避免起泡沫，请多次翻转试剂瓶来进行混合。确保 QIAGEN Protease (QP) 完全溶解。请勿将 QIAGEN Protease (QP) 直接添加到裂解缓冲液 (AL)。
- 为确保有效裂解，请务必将样本和裂解缓冲液(AL) 充分混合，以产生均匀的溶液。因为裂解缓冲液(AL) 的粘度很高，所以请仔细移液并使用合适的移液管，确保添加正确量的裂解缓冲液 (AL)。
- b) 使用的乙醇不是 96-100% 乙醇，而是低浓度的乙醇
- 使用新样本和 96-100% 乙醇重复纯化操作流程。请勿使用变性乙醇，此类乙醇中含有甲醇或甲乙酮等其他物质。
- c) 洗涤缓冲液 1 (AW1) 或洗涤缓冲液 2 (AW2) 制备不当
- 确保使用正确体积的 96 - 100% 乙醇稀释洗涤缓冲液 1 (AW1) 和洗涤缓冲液 2 (AW2) 浓缩物，并在开始操作程序前通过翻转瓶子数次进行混合。

意见和建议

- d) 血浆和血清样本未正确制备、储存或混合
- 对纯化程序进行了优化以用于人血浆和血清样本。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。采集和离心后，可将血浆和血清存放在 2 - 8°C 环境下，最多可存放 6 小时。如要长期存放，建议将样本等分，然后在 -80°C 至 -20°C 环境下冷冻。
- 不得多次融化冷冻的血浆或血清样本。反复冷冻解冻会导致蛋白变性和沉淀，从而导致病毒滴度下降，进而导致病毒核酸产量减少。
- 通过轻微搅动将冷冻样本解冻，以确保充分混合。
- e) 洗脱物中几乎没有或没有 DNA
- 如果可能，降低洗脱体积或增加加入到反应中的洗脱物的体积。
- f) 采用的洗脱体积不当
- 确定适合您的下游应用的最大洗脱物体积。相应地减少或增加加入到下游应用的洗脱物的体积。洗脱体积可按比例调整。使用较小体积的 Buffer AVE 进行洗脱可获得较高的核酸浓度。
- g) 潜在抑制剂的残留
- 务必在洗脱前进行干式离心步骤，以防止对下游检测的潜在抑制。
- 使用新的洗脱管以避免残留的洗涤缓冲液造成污染非常重要，因为这可能导致下游检测受到抑制。
- 根据 QIAamp DSP Virus Kit 的示例性干扰研究，并符合 ISO 20186-2:2019(E)，采血管中的肝素可能会影响分离的核酸纯度，并且可能携带污染到洗脱液中，从而在某些下游应用中产生抑制作用。因此，我们建议使用经 EDTA 或枸橼酸盐作为抗凝剂处理的血液样本。
- h) 载体 RNA 降解/制备不当
- 载体 RNA 的作用有两个：第一，它能增强病毒核酸附着到 QIAamp 硅胶膜的效果，尤其是在样本中的目标分子非常少时。第二，添加大量的载体 RNA 可以降低病毒 RNA 降解的几率，出现这种罕见的情况时，核糖核酸酶分子可避开裂解缓冲液 (AL) 中高离液盐和清洁剂对其的变性。
- 如果未将载体 RNA 添加到裂解缓冲液 (AL)，则可能会导致病毒 RNA 或 DNA 回收减少。
- 载体 RNA 只能溶解于 Buffer AVE；应立即将溶解的载体 RNA 添加到裂解缓冲液 (AL) 中。
- 一些商用下游检测的内部对照品中也包含载体 RNA。在这些情况下，请参阅下游检测制造商的相关使用说明。

符号

使用说明或包装和标签上会出现下列符号：

符号

符号定义



<N>

包含足够进行 <N> 次反应的试剂



用于



本产品符合体外诊断医疗器械法规 (EU) 2017/746 的要求。

IVD

体外诊断医疗器械

REF

目录编号

LOT

批号

MAT

材料编号（即，组件标签）

COMP

组件

VOL

体积

CONT

包含

NUM

数量

GTIN

全球贸易项目编号

Rn

R 表示使用说明为修订版，n 为修订版本号



温度限制

符号

符号定义



制造商



参考使用说明



避免阳光直射



警告/警示



到达时



重要事项



在带这个标记的方案步骤后更换手套



运输时打开：将 QIAamp MinElute 柱存放在 2 - 8°C 环境中



在瓶中添加乙醇后记录当前日期

ADD

添加

LYOPH

冻干

符号

符号定义

RCNS

重组

EtOH

乙醇

GuHCl

盐酸胍

MALEIC ACID

马来酸

SUBT

枯草杆菌蛋白酶



造成的后果

UDI

唯一设备标识符

附录

处理 RNA

核糖核酸酶 (RNase) 是一种非常稳定且活跃的酶类，其作用功能的发挥一般不需要辅助因子。由于核糖核酸酶难以灭活，并且只需微量便足以摧毁 RNA，因此请先消除可能存在的核糖核酸酶污染，然后再使用任何塑料或玻璃器具。应注意避免在分离程序期间或之后不慎将核糖核酸酶引入 RNA 样本。要创造并保持无核糖核酸酶环境，在处理 RNA 时，在一次性和非一次性容器和溶液的预处理和使用期间必须采取下列预防措施。

一般处理

处理 RNA 时应务必使用正确的微生物无菌操作技术。手和灰尘颗粒可能携带细菌和霉菌，是最常见的 RNase 污染源。务必在处理试剂和 RNA 样本时戴乳胶或乙烯基手套，以防止皮肤表面或积尘实验室设备造成 RNase 污染。经常更换手套并保持试管封闭。

订购信息

产品名称	内容物	目录编号
QIAamp DSP Virus Kit (50)	可用于 50 次制备：QIAamp MinElute 柱、缓冲液、试剂、试管、离心柱扩展器、VacConnector	60704
配件		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold	真空歧管，可处理 1-24 个离心柱：QIAvac 24 Plus Vacuum manifold、鲁尔插塞、快拆管接头	19413
Vacuum Pump	通用真空泵	84020
VacConnectors	500 个一次性连接器，与鲁尔接头上的 QIAamp 离心柱配套使用	19407
VacValves	24 个阀，与 QIAvac 24 以及 QIAvac 24 Plus 配套使用	19408
Vacuum Regulator	Vacuum Regulator	19530
QIAvac Connecting System	真空歧管与真空泵之间的连接件，其中包括：托盘、废液瓶、连接管、管接头、阀、量表和 24 个 VacValve	19419

欲获取最新的许可信息和特定产品的免责声明，请参阅相应的 QIAGEN 试剂盒使用说明。QIAGEN 试剂盒使用说明可从 www.qiagen.com 下载或从 QIAGEN 技术服务部门以及您当地的经销商处获取。

文档修订历史

修订版本

说明

R1, 2022 年 6 月 第 2 版, 修订 1

- 更新至试剂盒第 2 版, 以符合 IVDR
- 更新了“预期用途”和“局限性”章节
- 更新了“描述与原理”
- 更新了“提供的材料”（增加了活性成分）和“需要而未提供的材料”
- 更新了“警告和预防措施”（增加了“紧急情况应对信息”和“处置”部分）
- 更新了试剂的存放和处理
- 更新了“标本采集、存储和处理”
- 更新了“重要事项” & “操作步骤”
- 更新了“性能特点”
- 增加了“附录”章节
- 增加了“故障排除向导”
- 更新了“符号”章节
- 增加了“订购信息”

此页面有意保留空白

此页面有意保留空白

此页面有意保留空白

QIAamp® DSP Virus Kit 有限许可协议

使用本产品表示本产品的任何购买者或使用者同意遵循如下条款：

1. 使用本产品时必须遵守本产品随附的方案和本使用说明，且本产品仅供与检测板中包含的组分配套使用。除了本产品随附的方案、本使用说明以及 www.qiagen.com 上提供的其他方案中所述的情况，QIAGEN 并未在其任何知识产权下许可将本检测板的所含组件与本检测板中未包含的任何组件协同使用或者整合。其中一些附加操作方案可能是由 QIAGEN 用户为 QIAGEN 用户提供的。这些操作方案未经 QIAGEN 彻底测试或优化。QIAGEN 既不对其进行担保，也不保证其没有侵犯第三方的权利。
2. 除非相关许可明确说明，否则 QIAGEN 并不保证本检测板和/或其使用不会侵犯第三方的权利。
3. 本检测板及其组件为一次性用品，不可重复使用、翻新或转卖。
4. 除了明确陈述的许可外，QIAGEN 否认提供任何其他明示或暗示许可。
5. 本检测板的购买者和使用者同意不采取、也不允许其他人采取任何步骤来实施或推动实施以上禁止的任何行为。为使本“有限许可协议”条款的规定内容或者保护本检测板和/或其组件的知识产权，QIAGEN 可能会在法庭上执行本协议的相关禁令，并追讨所有调查和诉讼费用（包括律师费）。

如需获得更新的许可条款，请访问 www.qiagen.com。

商标：QIAGEN®、Sample to Insight®、QIAamp®(QIAGEN Group)。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。

1127541ZHCN 06/2022 HB-3032-001 © 2022 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