



2022 年 6 月

# QIAamp<sup>®</sup> DSP DNA Blood Mini Kit 使用说明 (性能特点)

第 3 版



供体外诊断使用

用于 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit



61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 德国

R1

性能特点有电子版，可以在 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 产品页面的“资源”标签下找到。

## 一般说明

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 利用二氧化硅膜技术（QIAamp 技术）从生物标本中分离和纯化基因组 DNA。

QIAamp DSP DNA Blood Mini 程序旨在同步处理多个血液样本，可提供纯化的 DNA 以供使用。这些程序适用于新鲜或冷冻全血以及用枸橼酸盐或 EDTA 处理过的血液。

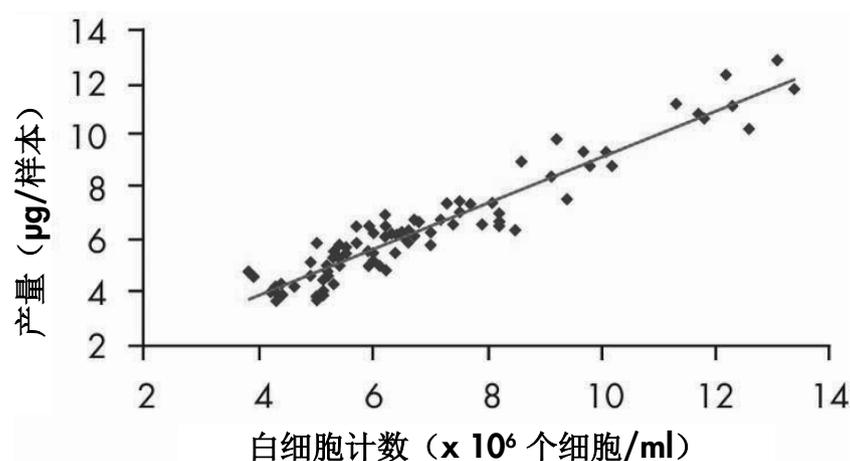
这个简单的 QIAamp DSP 离心程序和真空程序适合同时处理多个样本。QIAcube® Connect MDx 的某些 QIAamp 离心程序可完全自动化，从而提高标准化程度和易用性。QIAcube Connect MDx 可自动化执行核酸的分离和纯化。每次运行最多可处理 12 份样本。

## 性能特点

**提示：**性能特点高度依赖于各种因素，并与特定的下游应用相关。已经建立了 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 与示例性下游应用联用的性能特点。然而，从生物标本中分离核酸的方法是各种下游应用的前端，作为下游应用开发的一部分，任何此类工作流都需要建立性能参数（譬如，交叉污染或运行精度）。因此，用户有责任验证整个工作流，以确立适合的性能参数。

### 基本性能以及与不同下游应用的兼容性

QIAamp DSP DNA Blood Mini 真空程序的基本性能已通过健康捐献者的血液确定，其中白细胞计数为  $3.8 \times 10^6$  至  $1.34 \times 10^7$  个细胞/ml（参见图 1）。



**图 1. 使用 QIAamp DSP DNA Blood Mini 真空程序和 200 µl 洗脱体积观察到的产量。** 已确定健康捐献者的白细胞计数，处于  $3.8 \times 10^6$  至  $1.34 \times 10^7$  个细胞/ml 的范围内。使用 QIAamp DSP DNA Blood Mini 真空程序和 200 µl 洗脱体积从血液样本中纯化 DNA。处理了 87 个一式三份的样本。

在 QIAamp DSP DNA Blood Mini 程序中纯化的 DNA 数量取决于每个血液样本的白细胞含量。使用离心或真空程序从健康捐献者的 200 µl 血液样本中纯化基因组 DNA。可使用各种主要试管和抗凝血剂收集血液样本供 QIAamp DSP DNA Blood Mini 程序使用（表 1）。

表 1. 使用各种主要试管和抗凝血剂收集的血液样本中 DNA 的平均相对产量

主要试管	制造商	目录编号	标称容量	平均产量*
BD™ Vacutainer® 9NC	BD	366007	9 ml	6.4 µg
BD Vacutainer K3E	BD	36847	10 ml	6.6 µg
BD Vacutainer K2E	BD	367864	6 ml	6.4 µg
S-Monovette® EDTA	Sarstedt®	02.1066.001	9 ml	6.5 µg
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	8.5 ml	6.3 µg
Vacurette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	9 ml	6.5 µg
Vacurette 9NC	Greiner Bio-One	454382	2 ml	6.3 µg

用健康捐献者的 200 µl 血液样本纯化基因组 DNA (4.0 至 9.0 × 10<sup>6</sup> 个细胞/ml)。

\* 每个主要试管的平均产量通过 11 个一式三份的样本确定。

洗脱的基因组 DNA 可用于不同的下游检测。

## 样本输入/洗脱液输出范围和 DNA 纯度

可以选择不同的洗脱体积从 200 µl 全血中分离基因组 DNA。对于手动操作程序，洗脱体积范围为 50 至 200 µl。对于全自动离心工作流程，可能的洗脱体积为 100 和 200 µl，而对于部分自动化的离心工作流程（手动裂解后），可能的洗脱体积为 100 - 200 µl（以 10 µl 为增量）。减小洗脱容量可增加洗脱液的最终 DNA 浓度，但会略微降低 DNA 产量。我们建议使用适合预期下游应用的洗脱体积。

已经评估了不同洗脱体积对总 DNA 浓度的影响。图 2 显示了洗脱体积减少时洗脱液中 DNA 浓度的增高。

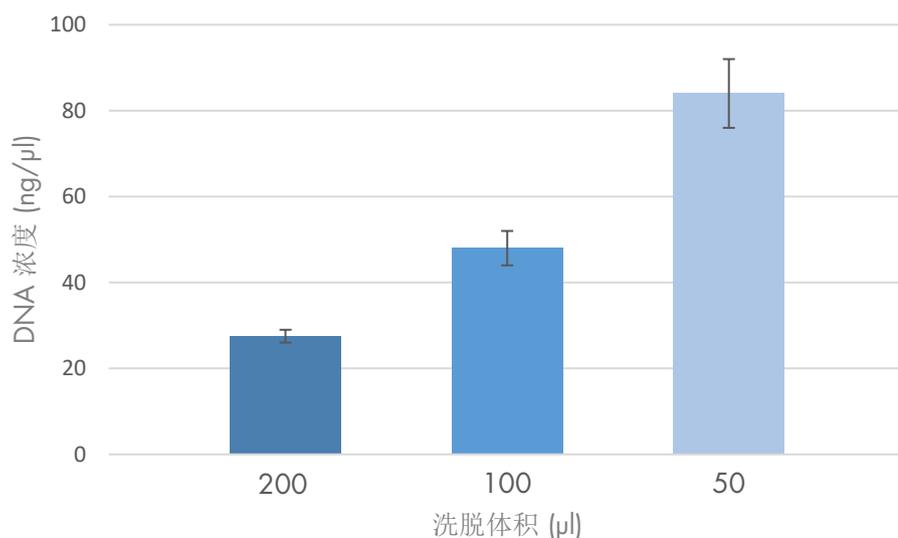


图 2. 使用 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 和不同洗脱体积从全血中分离 DNA 后获得的 DNA 浓度。图中的每个长条表示 32 次重复检测的结果（均值 ± 标准差）。

此外，作为 DNA 纯度的指标，针对不同测试洗脱体积测量了 260 和 280 nm 波长下吸光度之间的比率。在不同洗脱体积之间没有观察到差异，总体平均比率表明蛋白质污染水平很低。

## 精度

确定了在 QIAcube Connect MDx 上使用 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 从全血中自动提取人基因组 DNA 的变异系数 (Coefficients of Variation, CV)。通过 OD 测量确定总 DNA 产量。

确定了可重复性 (一次纯化运行的批内变异性) 和中间精度 (不同操作员、不同仪器和不同日期的不同纯化运行之间的批间变异性)。表 2 中显示了精确数据。

表 2. 精度估计分析

精度	CV (%)
中间精度	1.65
可重复性	6.09
总精度	6.24

对于手动真空操作程序, 确定并评价了平均产量和 CV 以评估中间精度、重复性和再现性。此外, 还分析了内部 real-time PCR 检测中的 DNA 完整性和性能。

## 样本稳定性

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。已通过示例性下游应用进行过评价。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。

冷冻和解冻经 EDTA 处理的血液样本对使用 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 进行 DNA 纯化的影响已经确定。没有观察到产量 (参见图 3) 或下游检测性能的显著下降。

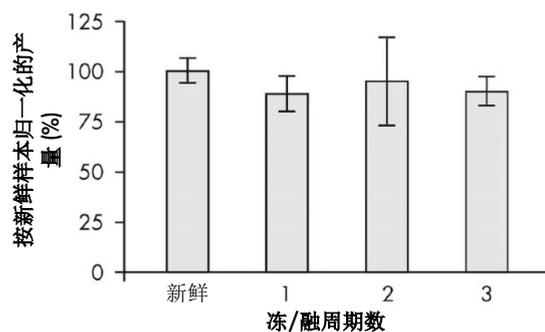


图 3. 冷冻/解冻血液样本的影响。经 EDTA 处理的血液被冷冻和解冻达 3 次, 然后使用 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 进行 DNA 纯化。计算出的 DNA 产量按新鲜样本的产量进行归一化 (100%)。图中的每个长条表示 32 次重复检测的结果 (均值 ± 标准差)。

## 洗脱液稳定性

**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 DNA Blood Mini 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。

从人血中提取核酸后，使用分光光度法和内部 real-time PCR 检测评估了 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 的洗脱液稳定性。洗脱的 DNA 可在 2 - 8° C 下最多储存 4 周。对于长期存放，我们建议在 -20° C 下储存。

## 干扰性物质

将患者全血中存在的不同潜在外源性和内源性干扰性物质加标到血液样本中，以测试使用 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 分离 gDNA 后它们对示例性下游检测的影响。

评价了溶血（人血红蛋白）、脂血（甘油三酯）和黄疸（非结合胆红素）的常见相关潜在干扰性物质。此外，还评估了三倍于采样管中已经存在的抗凝剂 K2-EDTA、K3-EDTA 和 Na2-EDTA 浓度的干扰效果。这些潜在干扰物和大约 20 种其他潜在干扰物（例如通常用于癌症治疗，因此可能在患者样本中发现的药物）未观察到显著负面影响。

**提示：**使用下游应用示例进行测试，以评估核酸提取质量。然而，不同的下游应用对纯度可能有不同的要求（例如，无潜在干扰性物质或潜在干扰性物质的浓度），因此作为下游应用开发的一部分，涉及 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 的任何工作流都需要进行相关物质及各自浓度的鉴定和测试。

任何潜在的干扰性物质（例如药物）及相应浓度都与下游应用和患者之前可能接受的医学治疗具有高度特异性，在使用 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 验证此类下游应用期间需要对此进行调查。

**提示：**根据 ISO 20186-2:2019(E)，采集管中的肝素可能会影响分离的核酸纯度，并且可能残留到洗脱液中，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样进行血浆制备。

## 交叉污染

使用示例性 QIAamp 工作流程（QIAamp DSP Virus Spin 和含有 1.00E+07 拷贝/ml DNA 病毒的血浆和血清样本），通过批次纵横交替（阳性和阴性样本交替）执行 5 次 12 个样本运行来分析在 QIAcube Connect MDx 上自动纯化核酸的交叉污染风险。通过使用内部 real-time PCR 检测对洗脱液进行后续分析，评价了阴性样本在提取过程中的潜在污染。未检测到样本间或运行间存在交叉污染。

## 符号

本文档中出现了以下符号。有关使用说明或包装和标签上所用符号的完整列表，请参阅手册。

符号	符号定义
	本产品符合体外诊断医疗器械欧盟法规 2017/746 的要求。
	体外诊断医疗器械
	目录编号
Rn	R 表示使用说明为修订版，n 为修订版本号
	制造商

## 修订历史

修订日期	说明
R1, 2022 年 6 月	<p>第 3 版, 修订 1</p> <ul style="list-style-type: none"><li>更新到第 3 版以符合 IVDR</li><li>将性能特点从试剂盒手册转移到本文档中并进行了更新:<ul style="list-style-type: none"><li>将“纯化 DNA 的产量”章节和“下游检测的性能”章节转移到“基本性能以及与不同下游应用的兼容性”章节</li><li>增加了“样本输入/洗脱液输出范围和 DNA 纯度”章节</li><li>增加了“精度”章节</li><li>更新了“洗脱液稳定性”章节</li><li>增加了“样本稳定性”章节</li><li>增加了“干扰性物质”章节</li><li>增加了“交叉污染”章节</li><li>增加了“符号”章节</li><li>添加了“修订历史”章节</li></ul></li></ul>

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 试剂盒手册或用户手册。QIAGEN 试剂盒手册和用户手册可从 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 或 QIAGEN 技术服务部门以及您当地的经销商处获得。

商标: QIAGEN<sup>®</sup>、Sample to Insight<sup>®</sup>、QIAamp<sup>®</sup>、QIAcube<sup>®</sup>、Pyrosequencing<sup>®</sup> (QIAGEN Group); BD<sup>™</sup>、Vacutainer<sup>®</sup> (Becton Dickinson and Company); S-Monovette<sup>®</sup> (Sarstedt AG and Co.); Vacuette<sup>®</sup> (Greiner Bio-One GmbH)。本文档中使用的注册名称、商标等, 即便未专门标记, 也不得视为不受法律保护。

HB-3030-D01-001 © 2022 QIAGEN, 保留所有权利。

