



2022 年 6 月

# QIAsymphony® DSP DNA Mini Kit 使用说明（方案书）

Tissue\_LC\_200\_V7\_DSP 和 Tissue\_HC\_200\_V7\_DSP 方案

第 2 版

**IVD**

供体外诊断使用

用于 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (192)



**REF**

937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 德国

R1 方案书提供电子版，可在 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 产品页面的“资源”标签下找到。

## 一般信息

QIAsymphony DSP DNA Kit 旨在用于体外诊断。

这些方案用于使用 QIAsymphony SP 和 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit 从组织和福尔马林固定、石蜡包埋 (FFPE) 组织中纯化总 DNA。

根据样本类型，我们建议使用低含量 (LC) 或高含量 (HC) 方案。当采用高含量方案处理时，组织可提供更高的 DNA 产量，但如果需要高 DNA 浓度，则可结合使用低含量方案和小洗脱体积 (50 µl)。对于 FFPE 组织，建议采用低含量方案。

### 低含量方案

试剂盒	QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (目录编号 937236)
样本材料	FFPE 组织和组织* 最多 4 个 FFPE 组织切片，每个厚度不超过 10 µm，或 8 个切片，厚度不超过 5 µm，表面积不超过 250 mm <sup>2</sup> ，可合并为一个制备物。
方案名称	Tissue_LC_200_V7_DSP
默认检测对照品集	ACS_Tissue_LC_200_V7_DSP
洗脱体积	50 µl、100 µl、200 µl 或 400 µl
所需软件版本	版本 4.0 或以上
IVD 应用所需要的软件配置	默认配置文件 1

\* 有关组织样本的信息，请参见高含量方案。

### 高含量方案

试剂盒	QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (目录编号 937236)
样本材料	组织 如果无法获得关于预期产量的信息，建议从 25 mg 样本材料开始。根据获得的产量，可在后续制备中增加样本量。
方案名称	Tissue_HC_200_V7_DSP
默认检测对照品集	ACS_TissueHLC_200_V7_DSP
洗脱体积	50、100、200 和 400 µl
所需软件版本	版本 4.0 或以上
IVD 应用所需要的软件配置	默认配置文件 1

## 使用者应自备的材料

### 对于所有样本类型

- Buffer ATL, 4 x 50 ml (目录编号 939016)
- 最大限度减少 RNA 含量: DNase-free RNase A (100 mg/ml 储备液)

### 对于 FFPE 组织 (无二甲苯脱蜡)

- Deparaffinization Solution (目录编号 939018)

### 对于 FFPE 组织 (二甲苯脱蜡)

- 二甲苯 (99 - 100%)
- 乙醇 (96 - 100%)\*

## “Sample” (样本) 抽屉

样本类型	FFPE 组织和组织
样本体积	220 µl (根据方案每份样本需要的体积) *
处理样本体积	200 µl
主要样本试管	n/a
辅助样本试管	有关更多信息, 请参阅 <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> 产品页面的“资源”标签下提供的实验器具清单。
垫片	有关更多信息, 请参阅 <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> 产品页面的“资源”标签下提供的实验器具清单。

\* 对于高含量和低含量方案, 系统将无法识别样本体积是否小于 220 µl, 因为样本转移是在没有液位检测的情况下进行的。因此, 确保样本输入体积为 220 µl。  
n/a = 不适用。

## “Reagents and Consumables” (试剂和耗材) 抽屉

位置 A1 和/或 A2	试剂卡盒 (RC)
位置 B1	n/a
吸头盒载架 1-17	一次性过滤吸头, 200 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。

\* 请勿使用变性乙醇, 其中包含甲醇或甲乙酮等其他物质。

## “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（建议使用插槽 1 的冷却位置）	有关更多信息，请参阅 <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> 产品页面“资源”标签下提供的实验器具清单。
---------------------	---

## 所需的塑料器具

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*
Disposable Filter-Tips, 200 µl <sup>†</sup>	26	50	74	98
Disposable Filter-Tips, 1500 µl <sup>†</sup>	72	136	200	264
Sample prep cartridges <sup>‡</sup>	21	42	63	84
8-Rod Covers <sup>§</sup>	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。

<sup>†</sup> 具有 32 个过滤吸头/过滤吸头架。

<sup>‡</sup> 所需的过滤吸头数量包括每个 RC 1 次库存扫描的过滤吸头。

<sup>§</sup> 具有 28 个样本制备试剂盒/单元盒。

<sup>¶</sup> 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。

## 洗脱体积

在触摸屏上选择洗脱体积。根据样本类型和 DNA 含量，最终体积的变化可能比所选体积小 15 µl。由于洗脱体积可能变化，系统不会在移液之前验证洗脱体积，建议在使用自动化检测设置系统时检查实际洗脱体积。减小洗脱体积可增加最终 DNA 浓度，但会略微降低产量。我们建议使用适合预期下游应用的洗脱体积。

## 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)。

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）”。

## 开始之前的准备事项

- 检查 Buffer ATL 中是否有白色沉淀。如有必要，在 37°C 下孵育 30 分钟，偶尔振摇以溶解沉淀。
- 将恒温混匀仪或振荡孵育箱设置为相应预处理所需的温度。

## 组织

新鲜和冷冻组织可用于 DNA 纯化。DNA 产量和质量将取决于组织类型、来源和储存条件。可将新鲜组织切成小块，在处理前置于 -20°C 或 -80°C 下保存。一般而言，建议使用高含量方案，该方案将提高 DNA 产量。仅在下游分析需要高 DNA 浓度时推荐采用低含量方案结合使用 50  $\mu$ l 洗脱体积。如果没有关于预期产量的信息，建议采用高含量方案和 200  $\mu$ l 洗脱体积，从 25 mg 样本材料开始。根据获得的产量，可在后续制备中增加样本量或减少洗脱体积。请注意，超负荷制备液结合较小的洗脱体积可能导致洗脱液巾发生磁微粒携带污染，并可能损害 DNA 纯度和下游分析。

**提示：**当处理冷冻组织样本时，应考虑 ISO 20184-3:2021(E) 关于从冷冻组织样本中进行自动 NA 提取的要求。

**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。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。

## 组织预处理方案

1. 将组织样本转移至 2 ml 微型离心管（未提供）中。
2. 添加 220  $\mu$ l Buffer ATL。
3. 添加 20  $\mu$ l 蛋白酶 K，轻敲离心管混匀。

**提示：**使用 QIASymphony DSP DNA Mini Kit 酶架中的蛋白酶 K。

4. 将离心管置于恒温混匀仪或震荡孵育箱中，在 56°C、900 rpm 振荡速度下孵育，直至组织完全裂解。

**提示：**裂解时间因处理的组织类型而异。对于大多数组织，裂解在 3 小时内完成。如果 3 小时后裂解不完全（表现为存在不溶性材料或高粘度裂解物），则可以延长裂解时间或按照步骤 6 所述通过离心去除不溶性材料。可进行过夜裂解且不影响制备。

5. 为尽量减少样本中的 RNA 含量，加入 4  $\mu$ l RNase A (100 mg/ml)，并在室温 (15-25°C) 下孵育 2 分钟，然后继续进行步骤 6。
6. 通过上下吸液数次混匀样本。

**提示：**如果仍存在不溶性材料，则以 3000 x g 离心 1 分钟。

7. 小心地将 220  $\mu$ l 上清液转移至与 QIASymphony SP 样本架兼容的样本试管中。
8. 有关兼容样本试管的完整列表，请参阅 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 下的实验器具清单。建议使用 2 ml 试管（例如，Sarstedt，目录编号：72.693 或 72.608）。0。

## FFPE 组织

标准 FFPE 程序始终可导致核酸的大量破碎。为了限制 DNA 破碎的程度，请确保：

- 在手术移除后尽快用 4 - 10% 的福尔马林溶液固定组织样本
- 固定时间 14 - 24 小时（更长的固定时间可导致更严重的 DNA 破碎，导致在下游检测中表现较差）
- 包埋前为样本彻底脱水（残留福尔马林可能抑制蛋白酶 K 消化）

DNA 纯化的起始材料应为新鲜切割的 FFPE 组织切片。最多 4 个切片，每个厚度不超过 10  $\mu\text{m}$ ，或 8 个切片，厚度不超过 5  $\mu\text{m}$ ，表面积不超过 250  $\text{mm}^2$ ，可处理为一个制备物。如果无法获得关于起始材料性质的信息，建议以单份制备物中不超过 3 个切片作为起始材料。取决于 DNA 产量和纯度，您可随后最多使用 8 个切片。

**提示：**当处理 FFPE 组织时，应考虑 ISO 20166-3:2018(E) 关于从 FFPE 组织样本中进行自动 NA 提取的要求，以获得样本处理的更多信息。

**提示：**FFPE 组织方案专门设计用于仅共同纯化少量 RNA。与使用手动 QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue Kit 获得的值相比，这将导致光度测量值降低。

### FFPE 组织预处理方案

#### 方法 1：使用 Deparaffinization Solution 脱蜡

1. 用手术刀修剪掉样本块上多余的石蜡。
2. 切成 4 个 10  $\mu\text{m}$  厚的切片或 8 个 5  $\mu\text{m}$  厚的切片。  
**提示：**如果样本表面曾暴露在空气中，则丢弃前 2-3 个切片。
3. 立即将切片置于 2 ml Sarstedt 试管（未提供，目录编号 72.693 或 72.608）中，该试管与 QIASymphony SP 的样本架兼容。
4. 向切片中添加 200  $\mu\text{l}$  Buffer ATL。
5. 添加 20  $\mu\text{l}$  蛋白酶 K。  
**提示：**使用 QIASymphony DSP DNA Mini Kit 酶架中的蛋白酶 K。
6. 添加 160  $\mu\text{l}$  或 320  $\mu\text{l}$  Deparaffinization Solution（见下表），并涡旋混匀。

切片厚度	切片数量	Deparaffinization Solution 体积
5 $\mu\text{m}$	1-4	160 $\mu\text{l}$
	5-8	320 $\mu\text{l}$
10 $\mu\text{m}$	1-2	160 $\mu\text{l}$
	3-4	320 $\mu\text{l}$

7. 将离心管置于 ThermoMixer 或震荡孵育箱中，在 56°C、1000 rpm 振荡速度下孵育 1 小时，直至组织完全裂解。

**提示：**裂解时间因处理的组织类型而异。对于大多数组织，裂解在 1 小时内完成。如果 1 小时后裂解不完全（表现为存在不溶性材料），则可以延长裂解时间或按照步骤 10 所述通过离心使不溶性材料沉淀。可进行过夜裂解且不影响制备。

8. 在 90°C 下孵育 1 小时。

**提示：**在 Buffer ATL 中于 90°C 下孵育可部分逆转核酸的福尔马林修饰。孵育时间较长或孵育温度较高可能产生更多的片段 DNA。如果仅使用一个加热块，则在 56°C 保温后让样本冷却到室温直至加热块温度达到 90°C。

- 为尽量减少样本中的 RNA 含量，向下层相中加入 2  $\mu$ l RNase A (100 mg/ml)，并在室温下孵育 2 分钟，然后继续进行步骤 10。加入 RNase A 前，使样本冷却至室温。
- 在室温下全速离心 1 分钟。
- 小心地将试管（包含两个相）转移到 QIA Symphony SP 的样本架上。

## 方法 2：使用二甲苯脱蜡

- 用手术刀修剪掉样块上多余的石蜡。
- 切成 4 个 10  $\mu$ m 厚的切片或 8 个 5  $\mu$ m 厚的切片。  
**提示：**如果样本表面曾暴露在空气中，则丢弃前 2-3 个切片。
- 立即将切片置于 1.5 或 2 ml 微量离心管（未提供）中，并向样本中加入 1 ml 二甲苯。盖上盖子，以涡旋方式强力振荡 10 秒。
- 在室温下全速离心 2 分钟。
- 通过移液除去上清液。请问移液任何沉淀物。
- 向沉淀物中加入 1 ml 乙醇 (96 - 100%)，并进行涡旋混合。  
**提示：**乙醇可从样本中提取残留二甲苯。
- 在室温下全速离心 2 分钟。
- 通过移液除去上清液。请问移液任何沉淀物。  
**提示：**使用细移液器吸头小心移除残留的乙醇。
- 打开试管，在室温 (15 - 25°C) 下孵育 10 分钟或直至所有残留乙醇蒸发。  
**提示：**最高可在 37°C 的温度下进行孵育。
- 在 220  $\mu$ l 的 Buffer ATL 重新悬浮沉淀物。
- 添加 20  $\mu$ l 蛋白酶 K，以涡旋方式混合。  
**提示：**使用 QIA Symphony DSP DNA Mini Kit 酶架中的蛋白酶 K。
- 在 56°C 下孵育 1 小时（或直至样本完全裂解）。  
**提示：**裂解时间因处理的组织类型而异。对于大多数组织，裂解在 1 小时内完成。如果 1 小时后裂解不完全（表现为存在不溶性材料），则可以延长裂解时间或按照步骤 16 所述通过离心去除不溶性材料。可进行过夜裂解且不影响制备。
- 在 90°C 下孵育 1 小时。  
**提示：**在 Buffer ATL 中于 90°C 下孵育可部分逆转核酸的福尔马林修饰。孵育时间较长或孵育温度较高可能产生更多的片段 DNA。如果仅使用一个加热块，则在 56°C 保温后让样本冷却到室温直至加热块温度达到 90°C。
- 短暂离心样本以去除盖内的液滴。
- 为尽量减少样本中的 RNA 含量，加入 2  $\mu$ l RNase A (100 mg/ml)，并在室温下孵育 2 分钟，然后继续进行步骤 16。加入 RNase A 前，使样本冷却至室温。
- 小心地将 220  $\mu$ l 裂解物转移至与 QIA Symphony SP 样本架兼容的样本试管中。  
**提示：**如果裂解物含有未消化的物质，则在室温下全速离心 2 分钟，然后将上清液转移至样本试管中。有关兼容样本试管的完整列表，请参阅 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 下的实验器具清单。建议使用 2 ml 试管（例如，Sarstedt，目录编号：72.693 或 72.608）。

## 洗脱液的储存

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 QIASymphony SP 中（最长为 12 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。

对于短期储存，洗脱液可在室温下储存最长 2 周。对于长期储存，我们建议储存于 2-8°C、- 20°C 或 - 80°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。QIASymphony DSP DNA Mini Kit 可与示例性下游应用联用。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。

## 开始前重要注意事项

- 如果样本中同时存在 RNA 和 DNA，QIASymphony 磁微粒会将它们共同纯化。如需不含 RNA 的 DNA，请在相应预处理方案中的规定步骤向样本添加 RNase A。

## 局限性和干扰性物质

在 QIASymphony DSP DNA Mini Kit 的开发过程中，未发现对样本制备产生负面影响的干扰性物质。

**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，不同的下游应用可能对纯化可能有不同的要求（例如，无潜在干扰性物质），因此作为下游应用开发的一部分，涉及 QIASymphony DSP DNA Mini Kit 的任何工作流都需要进行相关物质的鉴定和测试。

## 符号

本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法规 (EU) 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

### 修订版本

### 说明

R1, 2022 年 6 月

第 2 版, 修订 1

- 更新到第 2 版以符合 IVD
- 增加了“局限性和干扰性物质”章节
- 增加了“洗脱液的储存”章节
- 增加了“符号”章节
- 更新“制备样本材料”章节

有关设备许可的最新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) 下载或从 QIAGEN 技术服务部门以及您当地的经销商处获得。

商标: QIAGEN®、Sample to Insight®、QIAamp®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™ (Becton Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.)。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。  
06/2022 HB-3029-S07-001© 2022 QIAGEN, 保留所有权利。