

2017 年 2 月

# QIAsymphony®

## SP 操作规程单

circDNA\_2000\_DSP\_V1 和 circDNA\_4000\_DSP\_V1  
1

本文档是 QIAsymphony circDNA\_2000\_DSP\_V1 和 circDNA\_4000\_DSP\_V1 操作规程单 V1.1

## 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 试剂盒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 试剂盒 ( 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
操作规程名称	circDNA_2000_DSP_V1 circDNA_4000_DSP_V1
默认测定控制设备	ACS_circDNA_2000_DSP_V1 ACS_circDNA_4000_DSP_V1
洗脱容量	60 µl
所需软件版本	不低于 V4.0.3

## “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 )
样本容量	取决于所用样本试管类型 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。
主要样本试管	不适用
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。
说明书	不适用
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”抽屉中制备蛋白酶 K

QIAsymphony DSP Circulating DNA 试剂盒包含随时可用的蛋白酶 K 溶液，这些溶液可以在室温下储存。

**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”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](http://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 ml†
96	11.660 ml	22.220 ml†

\* 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	不适用
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 杆套的单元盒

n/a = 不适用。

## “Waste ( 废物 )”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](http://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*	四批 96 个样本*
一次性过滤吸头, 200 µl†	24	48	96
一次性过滤吸头, 1500 µl†	64	120	232
‡			
样本制备试剂盒§	15	30	60
8 杆套¶	3	6	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 杆套/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*	四批 96 个样本*
一次性过滤吸头, 200 µl†	24	48	96
一次性过滤吸头, 1500 µl†	104	200	392
‡			
样本制备试剂盒§	18	36	72
8 杆套¶	3	6	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 杆套/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 $\mu$ l	75 $\mu$ 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  $55 \mu$ l）少  $5 \mu$ 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”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 –20°C 或 –80°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

工作中如接触化学试剂，必须身着合适的防护服，戴好一次性手套和护目镜。如需更多信息，请参考相关的安全管制表 (SDS)。该表可从产品供应商处获得。

## 前期重要工作

- 防止在样本中或表面形成泡沫。
- 在开始运行之前，样本应该与室温 (15–25°C) 相平衡。

## 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](http://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 –20°C 或 –80°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温到 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](http://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

在启动需要缓冲液 ATL 的操作规程之前，检查缓冲液 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。从缓冲液 ATL 表面吸取气泡。

**提示：**缓冲液 ATL（缓冲液 ATL，4 x 50 ml，目录编号 939016）不是 QIA Symphony 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  $\mu\text{l}$  尿液 (circDNA\_2000\_DSP) 或 4500  $\mu\text{l}$  尿液 (circDNA\_4000\_DSP) 与 250  $\mu\text{l}$  或 450  $\mu\text{l}$  缓冲液 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  $\times g$  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](http://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 QIASymphony 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。

如需最新有关设备许可的相关信息和有关产品规格型号的免责声明，请参阅单个产品 QIAGEN 试剂盒使用手册或用户手册。QIAGEN 试剂盒使用手册或用户手册可从 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 或 QIAGEN 技术服务部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，甚至在没有专门如此标记时，也不得视为不受法律保护。  
02/2017 HB-2309-S01-001  
© 2017 QIAGEN，保留所有权利。

