

QIAsymphony® DSP DNA Kit 사용 지침

(성능 특징)

버전 2



체외 진단용

QIAsymphony DSP DNA Mini Kit 및 QIAsymphony DSP DNA Midi Kit 용



937236, 937255



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 독일

R1

성능 특징은 전자 문서로 제공되며 www.qiagen.com 의 제품 페이지 Resources(리소스) 탭에서 확인할 수 있습니다.

일반 개요

QIASymphony DSP DNA Kit 는 QIASymphony SP 에만 사용해야 합니다.

QIASymphony DSP DNA Mini Kit 는 사람의 전혈, 백혈구 연층, 조직, 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 조직 검체의 총 DNA 와 사람 전혈의 바이러스 DNA 를 자동 정제할 수 있는 시약을 제공합니다. QIASymphony DSP DNA Midi Kit 는 사람의 전혈 및 백혈구 연층에서 총 DNA 를 자동 정제할 수 있는 시약을 제공합니다. 그러나 모든 혈액 채집 튜브 또는 조직 유형에 대하여 성능 특징이 입증된 것은 아니며, 사용자가 검증해야 합니다.

자성 입자 기술은 단백질, 핵산분해효소 및 기타 불순물이 없는 고품질 핵산을 정제할 수 있습니다. 정제된 핵산은 다운스트림 분석(예: 증폭 반응(PCR))에 직접 사용할 수 있습니다. QIASymphony SP 는 정제 절차의 모든 단계를 수행합니다. 최대 24 개로 이루어진 배치에서 최대 96 개의 검체가 단일 실행으로 처리됩니다.

다음에는 다양한 분석에 대해 선택한 성능 데이터가 표시됩니다.

성능 특징

참고: 성능 특징은 다양한 요소에 따라 크게 달라지며 특정 다운스트림 분석과 관련이 있습니다. 이는 전형적인 다운스트림 분석과 함께 QIASymphony DSP DNA Mini 및 Midi Kit 에 맞게 설정되어 있습니다. 그러나 생물학적 시료에서 핵산을 분리하는 방법은 여러 다운스트림 분석에 프론트 엔드로 사용됩니다. 교차 오염 또는 실행 정밀도와 같은 성능 매개변수는 다운스트림 분석 개발의 일부로 이러한 작업 흐름에 대해 설정해야 합니다. 따라서 적절한 성능 매개변수를 설정하기 위해 전체 작업 흐름을 검증하는 것은 사용자의 책임입니다.

기본 성능 및 다양한 다운스트림 분석에 대한 호환성

DNA 혈액 및 백혈구 연충

DNA 수율

QIASymphony DSP DNA Mini Kit 의 기본 성능은 다양한 채집 튜브와 항응고제, 신선 및 냉동 상태의 사람 전혈을 사용하여 평가했습니다. 전혈은 세 명의 건강한 헌혈자로부터 세 가지 유형의 튜브에 채집했습니다(백혈구[WBC] 수 $4.0 \sim 11.0 \times 10^6$ cells/ml). EDTA, 10 ml BD™ Vacutainer® 16 x 100 mm(K2-EDTA), 구연산염, 2.7 ml Sarstedt® S-Monovette® 9NC Tube 13 x 75 mm(구연산염), 헤파린, 7.5 ml Sarstedt S-Monovette 15 x 92 mm(리튬 헤파린). 혈액은 신선(2~8°C 에서 보관) 또는 냉동(-20°C 에서 보관) 상태로 사용되었습니다. 유전체 DNA 는 200 µl 의 검체에서 QIASymphony DSP DNA Mini Kit 와 용출량 200 µl 의 Blood 200 DSP 프로토콜을 사용하여 헌혈자 및 튜브 유형당 복제본 4 개로 정제했습니다. DNA 수율 및 순도는 분광 분석에 의해 결정되었습니다(그림 1).

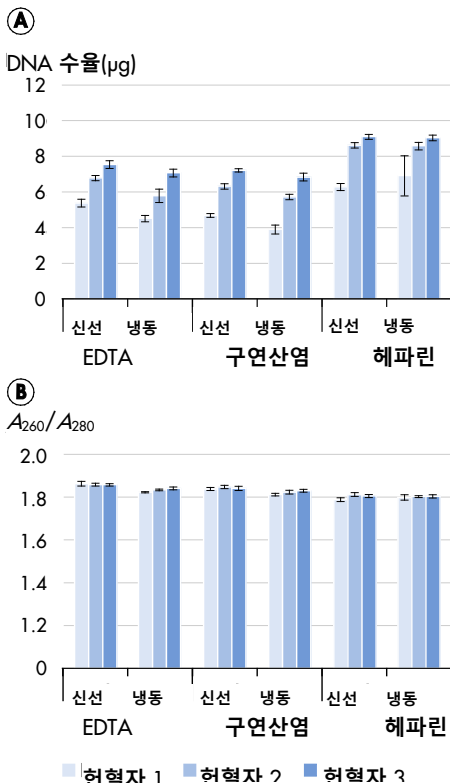


그림 1. 다양한 검체 채집 튜브 및 항응고제와 신선 및 냉동 상태의 사람 전혈을 사용한 DNA 수율 및 순도. A DNA 수율, 막대는 절대 DNA 수율 및 표준 편차를 나타냅니다. **B** DNA 순도, 막대는 DNA 순도 및 표준 편차를 나타냅니다.

DNA 무결성

원거리 PCR 제품(5kb)은 LongRange PCR 분석을 사용하여 증폭되었습니다(그림 2).

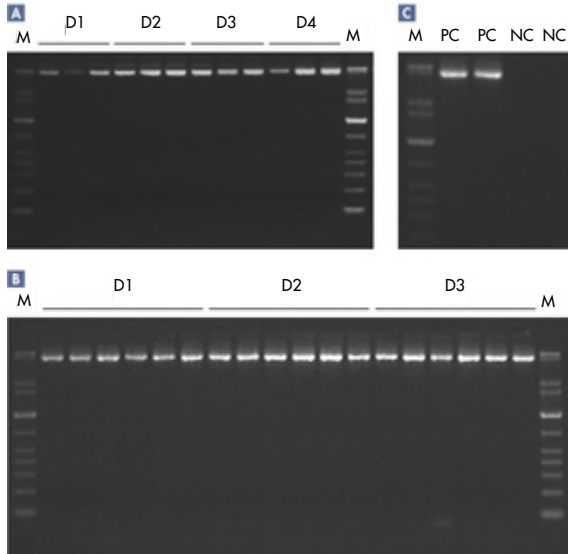


그림 2. 원거리 PCR 로 검사한 DNA 무결성. M, QIAGEN GelPilot 1kb Plus Ladder. **A** 전혈은 네 명의 건강한 헌혈자(D)로부터 BD K2E 튜브에 채집했습니다. 원거리 PCR 용 유전체 DNA 는 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit 와 용출량 200 μ l 의 Blood 200 DSP 프로토콜을 사용하여 분주 200 μ l 에서 세 번 정제했습니다. D1: 헌혈자 1, D2: 헌혈자 2, D3: 헌혈자 3, D4: 헌혈자 4. **B** 전혈은 세 명의 건강한 헌혈자로 부터 BD K2E 튜브에 채집하고 백혈구 연층을 준비했습니다. 유전체 DNA 는 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit 와 용출량 200 μ l 의 Buffy Coat 200 DSP 프로토콜을 사용하여 분주 200 μ l 에서 복제본 6 개로 정제했습니다. D1: 헌혈자 1, D2: 헌혈자 2, D3: 헌혈자 3. **C** 대조물질: PC(양성 대조물질) 및 NC(음성 대조물질)

DNA 수율과 WBC 수의 상관관계

QIAsymphony DSP DNA 혈액 및 백혈구 연층 분석의 성능은 혈액 및 백혈구 연층 검체에 검체 유형별로 여섯 가지 다른 WBC 수를 사용하여 평가했습니다. 전혈의 경우 WBC 수는 4×10^6 cells/ml 부터 11.6×10^6 cells/ml 까지이고, 백혈구 연층의 경우 해당 수는 2.2×10^7 cells/ml 부터 5.6×10^7 cells/ml 까지입니다. DNA 수율은 분광 분석에 의해 결정되고 WBC 수에 따라 그래프에 표시되었습니다(그림 3).

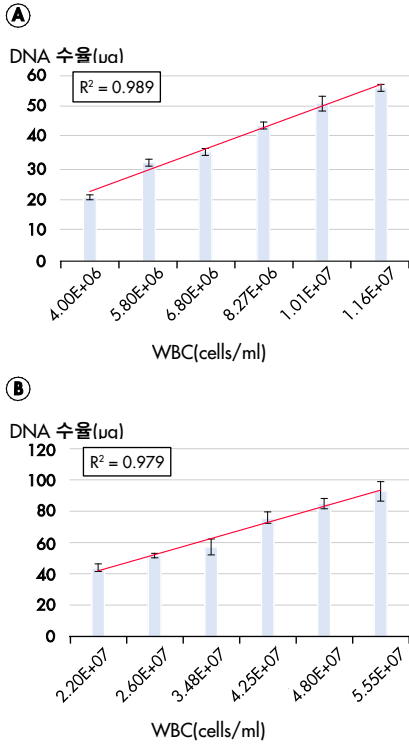


그림 3. DNA 수율과 WBC 수의 상관관계. A 유전체 DNA 는 QIAsymphony DSP DNA Midi Kit 와 용출량 500 µl 의 Blood 1000 DSP 프로토콜을 사용하여 사람 전혈 1 ml 에서 정제했습니다. 막대는 절대 DNA 수율 및 표준 편차를 나타냅니다. B 유전체 DNA 는 QIAsymphony DSP DNA Midi Kit 와 용출량 400 µl 의 Buffy Coat 400 DSP 프로토콜을 사용하여 백혈구 연층 400 µl 에서 정제했습니다. 막대는 절대 DNA 수율 및 표준 편차를 나타냅니다.

바이러스 혈액

적중률 연구는 사전에 정량화한 CMV WHO 표준 물질을 CMV 음성 사람 전혈에서 희석하여 수행했습니다. CMV 의 바이러스 부하가 밀리미터당 90IU 인 검체에서 검출률 100%가 관찰되었습니다(표 1).

표 1. QIAsymphony DSP Virus Blood 의 민감도 분석

CMV(IU/ml)	복제본 수	적중 수	적중률(%)
350	18	18	100.00
230	32	32	100.00
115	31	31	100.00
90	32	32	100.00
60	30	24	80.00
30	30	15	50.00
15	30	10	33.33
6	21	5	23.81
2	21	2	9.52
0	15	0	0.00

한 명의 건강한 CMV 음성 헌혈자로부터 사람 전혈을 BD K2E 튜브에 채집한 후 다양한 역가를 사용하여 CMV WHO 표준 물질을 첨가했습니다. 바이러스 DNA 는 QIAsymphony DSP DNA Mini Kit 와 용출량 60 µl 의 Virus Blood 200 DSP 프로토콜을 사용하여 정제했습니다. 용출액은 CMV real-time PCR 분석으로 분석했습니다.

조직 및 FFPE 조직

DNA 수율

QIASymphony DSP DNA FFPE 조직 분석 성능은 방금 절단한 10 µm의 사람 비장 FFPE 절편 1~4 개의 복제본 6 개를 사용하여 평가했습니다. DNA 추출은 QIASymphony DSP DNA Mini Kit와 조직 저항량 DSP 프로토콜의 조합을 사용하여 수행했습니다. 파라핀 제거 및 용해는 크실렌/에탄올 전처리 방법을 사용하여 수행했습니다. DNA는 50µl 용출 완충액에서 용출되었고 DNA 수율은 분광 분석으로 결정되었습니다(그림 4).

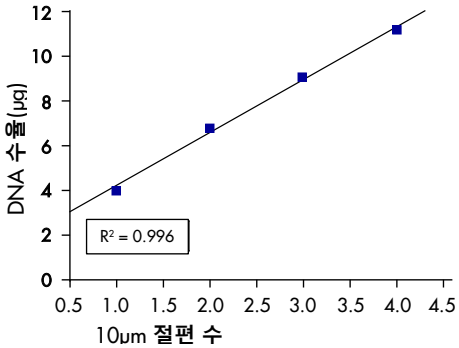


그림 4. FFPE 조직의 절편 수와 DNA 수율의 상관관계. 크실렌/에탄올 전처리를 통해 10 µm의 사람 비장 FFPE 절편 1~4 개의 복제본 6 개에서 파라핀을 제거했습니다. DNA 추출은 QIASymphony DSP DNA Mini Kit, 조직 저항량 DSP 프로토콜, 용출량 50 µl의 조합을 사용하여 QIASymphony SP에 대해 수행했습니다.

real-time PCR을 통한 생체표지자의 돌연변이 상태 분석

생체표지자의 돌연변이 상태 분석은 사람 대장의 FFPE 절편에서 추출한 DNA와 사람의 폐 조직 검체에서 추출한 DNA를 사용하여 수행했습니다.

FFPE 조직 검체에서 DNA를 추출하기 위해 10µm의 사람 대장 절편 3 개를 사용하여 검체를 준비했습니다. DNA 추출은 전처리용 Deparaffinization Solution, 조직 저항량 DSP 프로토콜, 용출량 100µl의 조합을 사용하여 수행했습니다. 생체표지자 KRAS의 돌연변이 분석은 분석 안내서에 따라 KRAS 검출용 real-time PCR 분석을 사용하여 수행했습니다. 대조물질 분석의 C_T 값이 정의된 범위 내에 있었고, 돌연변이 검출 분석에서는 ΔC_T 값 4.17에서 코돈 12의 아미노산 치환이 발생하는 것으로 나타났는데, 이는 12SER 돌연변이 검출에 대해 정의된 결정 값인 8 미만입니다(표 2).

표 2. FFPE 조직의 KRAS 생체표지자 돌연변이 분석 결과

검체	반응	표적 C _T	내부 대조물질 C _T	ΔC _T *
주형 없는 대조물질	대조물질	0.00	32.75	-
	12ALA	0.00	32.65	-
	12ASP	0.00	32.69	-
	12ARG	0.00	32.86	-
	12CYS	0.00	32.35	-
	12SER	0.00	32.76	-
	12VAL	0.00	32.41	-
	13ASP	0.00	32.26	-
표준	대조물질	25.95	32.73	-
	12ALA	26.39	32.29	0.44
	12ASP	26.54	32.15	0.59
	12ARG	26.35	32.14	0.40
	12CYS	26.31	32.47	0.36
	12SER	26.50	32.34	0.55
	12VAL	25.80	31.92	-0.15
	13ASP	27.09	32.54	1.14
FFPE 조직(사람 대장)	대조물질	24.94	31.98	-
	12ALA	n.d.	32.42	-
	12ASP	n.d.	32.73	-
	12ARG	n.d.	33.05	-
	12CYS	n.d.	32.74	-
	12SER	29.11	32.34	4.17
	12VAL	n.d.	32.81	-
	13ASP	n.d.	33.20	-

* ΔC_T = M C_T - C C_T, 여기서 M 은 돌연변이, C 는 대조물질, n.d.는 검출되지 않았음을 나타냅니다.

냉동된 조직 검체에서 DNA 를 추출하기 위해 25 mg 의 사람 폐 조직, 조직 고함량 DSP 프로토콜, 용출량 200μl 를 사용하여 검체를 준비했습니다. EGFR 생체표지자 돌연변이 분석은 EGFR 용 real-time PCR 분석을 사용하여 수행했습니다. 대조물질 분석 및 돌연변이 검출은 분석 안내서에 설명된 대로 수행했습니다. 결과는 ΔC_T 값 2.47 에서 EGFR 유전자 내 결실이 발생하는 것으로 나타났는데, 이는 돌연변이 검출에 대해 정의된 결정 값인 12 미만입니다(표 3).

표 3. 냉동된 조직의 EGFR 생체표지자 돌연변이 분석 결과

검체	반응	표적 C _T	내부 대조물질 C _T	ΔC _T *
주형 없는 대조물질	대조물질	0.00	31.71	-
	T790M	0.00	32.36	-
	결실	0.00	31.75	-
	L858R	0.00	32.05	-
	L861Q	0.00	31.77	-
	G719X	0.00	31.68	-
	S768I	0.00	32.25	-
	Ins	0.00	31.84	-
	표준	대조물질	28.78	31.05
	T790M	30.08	31.13	1.30
	결실	28.23	31.19	-0.55
	L858R	27.58	30.83	-1.20
	L861Q	27.80	30.86	-0.98
	G719X	27.80	30.90	-0.98
	S768I	29.28	31.41	0.50
	Ins	28.00	31.64	-0.78
조직(사람 폐)	대조물질	25.76	31.23	-
	T790M	n.d.	31.99	-
	결실	28.23	30.99	2.47
	L858R	n.d.	31.33	-
	L861Q	n.d.	31.98	-
	G719X	n.d.	32.06	-
	S768I	n.d.	31.88	-
	Ins	n.d.	31.62	-

* ΔC_T = M C_T - C C_T, 여기서 M 은 돌연변이, C 는 대조물질, n.d.는 검출되지 않았음을 나타냅니다.

반복성 및 재현성

DNA 혈액

DNA 추출은 용출량 200µl 의 Blood 200 DSP 프로토콜을 사용하여 수행했습니다. 반복성은 세 날짜에 세 번의 독립적인 실행(각각 96 개의 검체)을 수행한 단일 작업자가 평가했으며, 각 실행은 배치당 검체 24 개로 이루어진 배치 4 개로 구성되었습니다(표 4 및 표 5).

재현성은 세 날짜에 세 명의 작업자가 서로 다른 QIAasymphony SP 기기에서 세 번의 독립적인 실행(각각 96 개의 검체)을 수행하여 평가했으며, 각 실행은 배치당 검체 24 개로 이루어진 배치 4 개로 구성되었습니다(표 6 및 표 7).

표 4. 반복성 평가 결과

실행	배치	n	평균 DNA 수율(µg)	SD	CV
1	1	24	5.32	0.22	4.22
	2	24	4.90	0.22	4.54
	3	24	4.95	0.21	4.26
	4	24	5.05	0.18	3.60
2	1	24	5.17	0.30	5.84
	2	24	4.90	0.15	3.14
	3	24	4.82	0.20	4.13
	4	24	4.87	0.17	3.52
3	1	24	5.11	0.17	3.33
	2	24	4.84	0.24	4.91
	3	24	4.87	0.16	3.38
	4	24	4.78	0.16	3.38
총	-	288	4.96	-	-

n 은 복제본 수, SD 는 표준 편차, CV 는 변동 계수를 나타냅니다.

표 5. 반복성 평가의 정확도 데이터

	SD	CV
동일한 실행 내의 배치 간	0.25	4.95
전체 반복 정확도	0.26	5.18

SD 는 표준 편차, CV 는 변동 계수를 나타냅니다.

표 6. 재현성 평가 결과

실행	배치	n	평균 DNA 수율(µg)	SD	CV
1	1	24	5.32	0.22	4.22
	2	24	4.90	0.22	4.54
	3	24	4.95	0.21	4.26
	4	24	5.05	0.18	3.60
2	1	24	5.73	0.22	3.81
	2	24	5.56	0.26	4.63
	3	24	5.40	0.20	3.63
	4	24	5.46	0.21	3.89
3	1	24	5.73	0.26	4.62
	2	24	5.54	0.24	4.40
	3	24	5.41	0.18	3.34
	4	24	5.49	0.17	3.16
총	-	288	5.38	-	-

n 은 복제본 수, SD 는 표준 편차, CV 는 변동 계수를 나타냅니다.

표 7. 재현성 평가의 정확도 데이터

	SD	CV
동일한 실행 내의 배치 간	0.25	4.73
전체 반복 정확도	0.38	7.03

SD 는 표준 편차, CV 는 변동 계수를 나타냅니다.

성능 비교

DNA 혈액

QIAasymphony DSP DNA 혈액 시스템의 성능을 EZ1® DSP DNA 혈액 시스템 및 QIAamp® DNA Blood Mini Kit의 수동 준비 절차와 비교하여 분석했습니다. 다양한 혈액 검체에서 DNA를 정제하여 DNA 수율을 분석했습니다(그림 5).

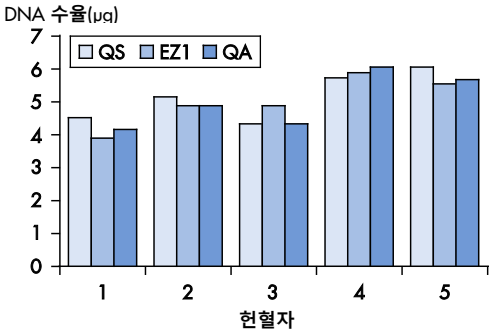


그림 5. 다양한 혈액 DNA 정제 시스템 간 DNA 수율 비교. 전혈은 5명의 건강한 헌혈자로부터 BD K2E 튜브에 채집했습니다. 모든 방법에 대해 검체 투입량 200 µl 및 용출량 200 µl를 사용했습니다. QS는 QIAasymphony DSP DNA Mini Kit 및 Blood 200 DSP 프로토콜, EZ1은 EZ1 DSP DNA Blood Kit를 사용하는 EZ1 Advanced XL, QA는 QIAamp DNA Blood Mini Kit를 나타냅니다. 막대는 각 검체의 절대 DNA 수율을 나타냅니다.

조직 및 FFPE 조직

QIAasymphony DSP DNA Mini Kit의 성능을 FFPE 조직과 신선 및 냉동 조직을 각각 검체 물질로 사용하여 수동 QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit 및 QIAamp DSP DNA Mini Kit의 성능과 비교했습니다. 수동 및 자동 검체 준비와 DNA 수율 정량화를 동시에 수행했습니다. QIAasymphony DSP DNA Mini Kit, QIAamp DSP DNA Mini Kit(조직), QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit(FFPE 조직)를 사용하여 신선/냉동 조직 검체 및 FFPE 조직 검체에서 추출한 후의 DNA 수율이 그림 6에 표시되어 있습니다.

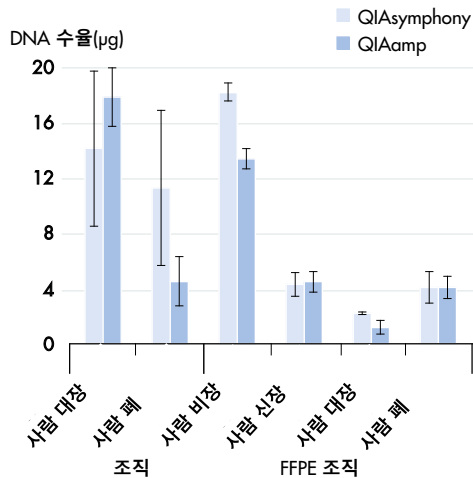


그림 6. 조직 및 FFPE 조직 검체의 DNA 추출. 신선/냉동 조직의 경우 사람 폐 및 대장 검체를 6 x 25 mg 조각으로 절단했습니다. QIAasymphony SP와 조직 고품량 DSP 프로토콜의 조합을 사용하여 검체를 준비하는 데 조직 유형당 세 개의 조각을 사용했습니다. 남은 검체의 DNA 추출은 QIAamp DSP DNA Mini Kit를 사용하여 수행했습니다. DNA는 200 µl에서 용출되었고 DNA 수율은 분광 분석으로 결정되었습니다. FFPE 조직의 DNA 추출의 경우 다양한 사람 장기에서 채집한 3 x 10µm의 FFPE 조직 절편이 포함된 복제본 12개를 준비했습니다. QIAasymphony SP, Deparaffinization Solution 전처리, 조직 저함량 DSP 프로토콜의 조합을 사용하여 검체를 준비하는 데 검체 6개를 사용했습니다. 남은 검체의 DNA 추출은 QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit를 사용하여 수행했습니다. DNA는 50 µl에서 용출되었고 DNA 수율은 분광 분석으로 결정되었습니다. 막대는 절대 DNA 수율 및 표준 편차를 나타냅니다.

검체 투입/용출량 산출 범위

DNA 혈액

DNA 혈액 분석을 위해 서로 다른 검체 투입 및 용출량 산출 범위를 WBC 수가 $5.0\sim 8.0 \times 10^6$ cells/ml 인 헌혈자의 검체를 사용하여 비교했습니다.

전혈은 8 명의 건강한 헌혈자로부터 BD K2E 튜브에 채집했습니다. DNA 는 각각 QIASymphony DSP DNA Mini/Midi Kit 와 용출량 200 μ l 의 DNA Blood 200 DSP 프로토콜, 용출량 400 μ l 의 DNA Blood 400 DSP 프로토콜, 용출량 500 μ l 의 DNA Blood 1000 DSP 프로토콜을 사용하여 복제본 6 개에서 정제되었습니다(그림 7).

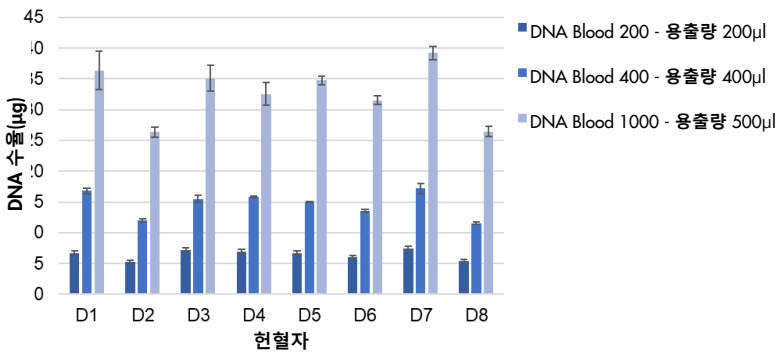


그림 7. 혈액 DNA 정제 시스템에 대한 다양한 검체 투입량 및 용출량 비교 전혈은 8 명의 건강한 헌혈자로부터 BD K2E 튜브에 채집했습니다. DNA 추출은 용출량 200 μ l 의 DNA Blood 200 프로토콜, 용출량 400 μ l 의 DNA Blood 400 프로토콜, 용출량 500 μ l 의 DNA Blood 1000 프로토콜을 사용하여 수행했습니다. DNA 수율은 분광 분석에 의해 결정되었습니다. 막대는 각 헌혈자에 대한 절대 DNA 수율(평균 값 및 표준 편차)을 나타냅니다.

바이러스 혈액

전혈은 WBC 수가 $4.0\sim 11.0 \times 10^6$ cells/ml 범위인 세 명의 건강한 헌혈자로부터 BD K2E 튜브에 채집한 후 CMV 표준 물질(역가 3.7 로그 copy/ml)을 첨가했습니다. 바이러스 DNA 는 각각 QIASymphony DSP DNA Mini Kit 와 네 가지 용출량의 Virus Blood 200 DSP 프로토콜을 사용하여 복제본 7 개에서 정제했습니다(그림 8).

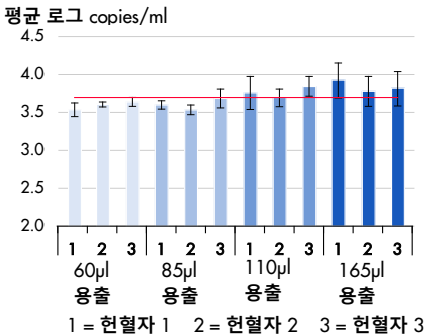


그림 8. 다양한 용출량에 대한 바이러스 DNA 정량화 비교 각 헌혈자 검체의 용출 및 용출량(60, 85, 110 및 165 μ l)은 CMV real-time PCR 분석으로 분석했습니다. 빨간색 선은 표적 역가를 나타내고, 막대는 평균 로그 copies/ mm 및 표준 편차를 나타냅니다.

용출액 안정성

참고: 용출액 안정성은 다양한 요소에 따라 크게 달라지며 특정 다운스트림 분석과 관련이 있습니다. 이는 전형적인 다운스트림 분석과 함께 QIAasymphony DSP Mini 및 Midi Kit 에 맞게 설정되어 있습니다. 실험실에서 사용되는 특정 다운스트림 분석에 대한 사용 지침을 확인하고 적절한 보관 조건을 설정하기 위해 전체 작업 흐름을 검증하는 것은 사용자의 책임입니다.

DNA 혈액 및 백혈구 연층

DNA 혈액 분석을 위한 용출액 안정성은 용출량 200 µl 의 DNA Blood 200 프로토콜 및 용출량 500 µl 의 DNA Blood 1000 프로토콜로 수행한 QS 실행의 용출액을 사용하여 검사했습니다. 용출액은 2 ml Sarstedt Tube 에 실온, 2~8°C, -20°C, -80°C 에서 보관했습니다. DNA 수율 및 순도는 분광 분석에 의해 결정되었습니다. DNA 무결성은 젤 전기영동법 및 LongRange PCR 분석으로 분석했습니다(그림 9).

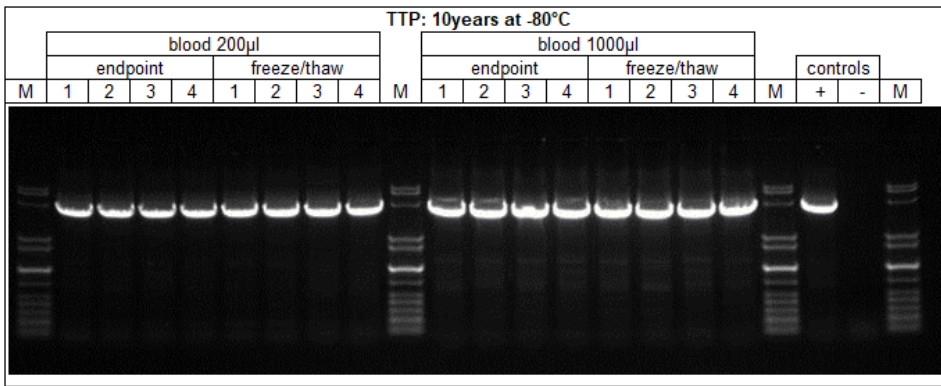


그림 9. DNA 혈액에 대한 용출액 안정성. DNA 는 DNA Blood 200µl 및 1000µl 프로토콜을 사용하여 정제했습니다. 용출액은 2 ml Sarstedt Tube 에 -80°C 에서 보관했습니다. 복제본 4 개를 분석했습니다. DNA 무결성은 원거리 PCR 로 검사했습니다. 수치는 10 년 동안 보관한 후의 결과를 나타냅니다. M, QIAGEN GelPilot 1kb Plus Ladder.

백혈구 연층 분석의 용출액 안정성은 BC 400 µl 프로토콜 및 용출량 200 µl 로 수행한 QS 실행의 용출액을 사용하여 검사했습니다. 용출액은 2 ml Sarstedt Tube 및 Elution Micro Tube Rack 에 실온, 2~8°C, -20°C, -80°C 에서 보관했습니다. 또한 용출액에 최대 세 번의 사이클에 걸쳐 동결-해동 검사를 수행했습니다(그림 10). DNA 수율 및 순도는 분광 분석에 의해 결정되었습니다. DNA 무결성은 젤 전기영동법 및 LongRange PCR 분석(50µl 반응)으로 분석했습니다.

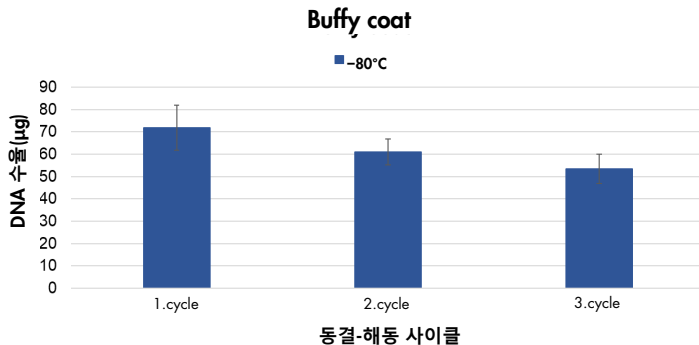


그림 10. 백혈구 연층의 용출액 동결-해동 사이클. DNA 는 DNA BC 400µl 프로토콜을 사용하여 정제했습니다. 백혈구 연층은 EDTA 혈액에서 생성했습니다. 용출액은 2 ml Sarstedt Tube 에 보관했습니다. DNA 수율은 세 번의 동결-해동 사이클에서 동일한 용출액을 사용하여 검사 시점에 결정되었습니다. DNA 수율은 분광 분석에 의해 결정되었습니다. 막대는 절대 DNA 수율(평균 값 및 표준 편차)을 나타냅니다.

바이러스 혈액

바이러스 혈액 분석의 용출액 안정성은 Virus Blood 200 µl 프로토콜 및 용출량 60 µl 로 수행한 QS 실행의 용출액을 사용하여 검사했습니다. 상용 CMV 표준(역가 2.7 로그 copies/ml)이 첨가된 K₂ EDTA 혈액을 검체 물질로 사용했습니다. 용출액은 2 ml Sarstedt Tube 에 2~8°C, -20°C, -80°C 에서 보관했습니다. 용출액은 CMV 실시간 분석을 사용하여 분석했습니다(그림 11). 다음에는 여러 검사 시점의 결과가 표시되어 있습니다.

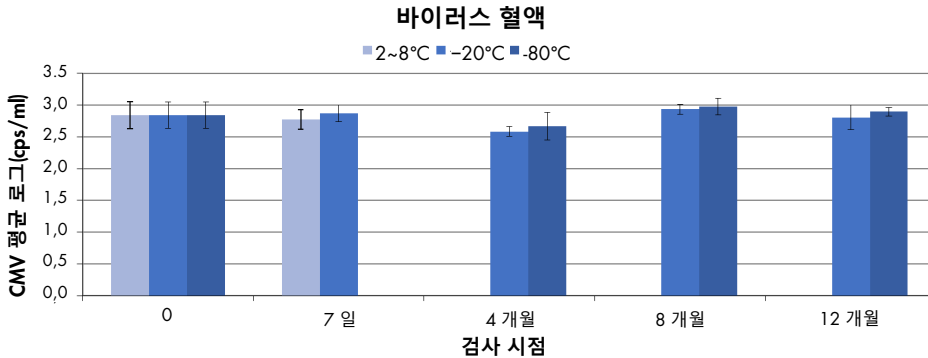


그림 11. 바이러스 혈액 분석의 용출액 안정성. 상용 CMV 표준이 첨가된 EDTA 혈액 검체를 바이러스 Blood 200 프로토콜로 정제했습니다. 용출액은 Elution Micro Tube Rack 과 2 ml Sarstedt Tube 에 다양한 온도에서 보관했습니다. 검사 시점별로 4 개의 복제본을 분석했습니다. 막대는 CMV 역가(평균 로그 값 및 표준 편차)를 나타냅니다.

조직

조직 분석의 용출액 안정성은 Tissue HC 200 µl 프로토콜 및 용출량 200 µl 를 사용하여 검사했습니다. 신선한 소 간을 검체 물질로 사용했습니다. 용출액은 2 ml Sarstedt Tube 및 Elution Micro Tube Rack 에 실온, 2~8°C, -20°C, -80°C 에서 보관했습니다. DNA 수율 및 순도는 분광 분석에 의해 결정되었습니다(그림 12). DNA 무결성은 젤 전기영동법으로 분석했습니다.

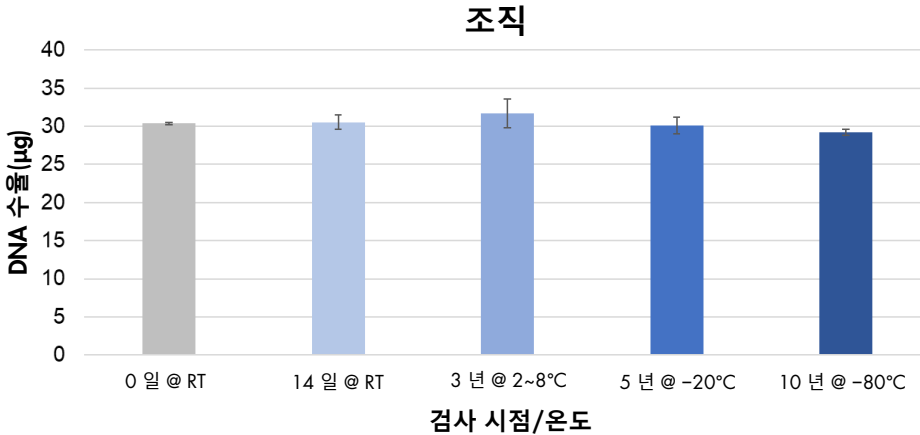
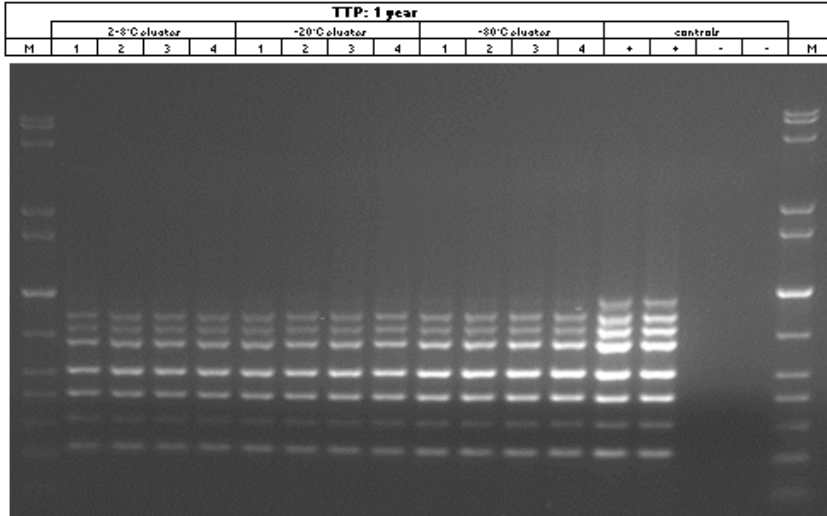


그림 12. 조직에 대한 용출액 안정성. DNA 는 DNA Tissue HC 프로토콜 및 용출량 200 µl 를 사용하여 정제했습니다. 신선한 소 간을 검체 물질로 사용했습니다. 용출액은 Elution Micro Tube Rack 과 2 ml Sarstedt Tube 에 다양한 온도에서 보관했습니다. 검사 시점별로 4 개의 복제본을 분석했습니다. DNA 수율은 분광 분석에 의해 결정되었습니다. 막대는 절대 DNA 수율(평균 값 및 표준 편차)을 나타냅니다.

FFPE 조직

FFPE 조직 분석의 용출액 안정성은 Tissue LC 200 μ l 프로토콜 및 용출량 100 μ l 를 사용하여 검사했습니다. 상용 사람 FFPE 조직을 표준 물질로 사용했습니다. 용출액은 2 ml Sarstedt Tube 및 Elution Micro Tube Rack 에 실온, 2~8°C, -20°C, -80°C 에서 보관했습니다. 용출액은 Inhouse human 8-plex PCR 분석으로 분석했습니다(그림 13). 다음에는 두 검사 시점의 결과가 표시되어 있습니다.

A:



B:

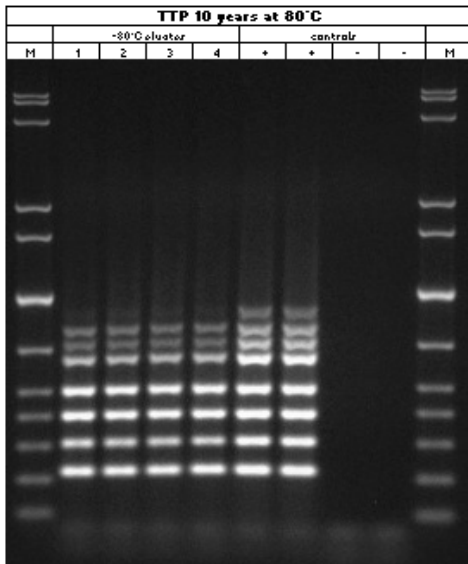


그림 13. FFPE 조직에 대한 용출액 안정성. DNA 는 DNA Tissue LC 프로토콜을 사용하여 정제했습니다. 상용 FFPE 조직을 표준 물질로 사용했습니다. 용출액은 Elution Micro Tube Rack 과 2 ml Sarstedt Tube 에 다양한 온도에서 보관했습니다. 검사 시점별로 4 개의 복제본을 분석했습니다. 용출액은 Inhouse human 8-plex PCR 분석으로 분석했습니다.

간섭 물질

전혈에 존재할 수 있는 억제 물질이 DNA 혈액 분석, 바이러스 혈액 분석, 조직 분석의 성능에 미치는 영향을 다음 물질을 추가하여 검사했습니다.

표 8. 다양한 분석에 대해 검사한 잠재적 간섭 물질

간섭 물질	농도	혈액	바이러스 혈액	조직
빌리루빈	200 mg/L	√	√	√
헤모글로빈	200g/L	√	√	
트리글리세라이드	30g/L	√	√	√
단백질	120g/L	√	√	√

참고: "√" 표시는 각 잠재적 간섭 물질에 대해 검사한 검체 물질을 나타냅니다.

헤모글로빈(200g/l) 및 단백질(120g/l)의 경우 혈액 검체의 기존 수준을 측정 후 헤모글로빈 또는 단백질을 추가하여 각각 표시된 농도인 200g/l 또는 120g/l를 달성했습니다. 빌리루빈(200 mg/l) 및 트리글리세라이드(30g/l)의 경우 각 물질의 총량을 검체에 추가하여 표시된 농도를 달성했습니다.

조직의 경우 각 물질의 총량을 용해물에 직접 첨가했으며 사용된 조직 검체의 빌리루빈, 트리글리세라이드 또는 단백질 농도는 측정하지 않았습니다.

잠재적 간섭 물질(예: 약물) 및 해당 농도는 환자의 다운스트림 분석 및 이전의 가능한 의학적 치료에 따라 크게 다르며, QIASymphony DSP DNA Mini 및 Midi Kit 를 사용하여 해당 다운스트림 분석을 검증하는 동안 조사해야 합니다.

참고: 추출된 핵산의 품질을 평가하기 위해 전형적인 다운스트림 분석을 사용하여 검사를 수행했습니다. 그러나 다운스트림 분석에 따라 순도 관련 요구 사항이 서로 다를 수 있으므로(즉, 잠재적 간섭 물질의 부재 또는 농도), QIASymphony DSP Mini 및 Midi Kit 와 관련된 모든 작업 흐름에 대해 관련 물질과 각 농도의 식별 및 검사 과정도 다운스트림 분석 개발의 일부로 설정해야 합니다.

참고: QIASymphony DSP DNA Midi Kit 를 개발하는 동안 헤파린이 성능에 부정적인 영향을 미친다는 징후는 관찰되지 않았습니다. 그러나 ISO 20186-2:2019(E)에는 혈액 채집 튜브의 헤파린은 분리된 핵산의 순도에 영향을 미칠 수 있으며, 용출액으로 캐리오버되어 일부 다운스트림 분석에서 억제를 유발할 수 있습니다. 따라서 헤파린이 작업 흐름에 부정적인 영향을 미치는지 확인하는 것은 사용자의 책임입니다.

DNA 혈액 및 백혈구 연충

DNA 혈액 분석의 경우 가장 많은 검체 투입량을 처리하는 DSP DNA 1000 프로토콜을 사용하여 용출량 200 µl 및 500 µl 로 검사했습니다.

용출액은 DNA 수율 및 순도를 위해 분광 분석으로 분석했습니다. PCR 호환성은 real-time PCR 및 끝점 PCR 분석을 사용하여 검사했습니다.

표 9 에 나열된 어떠한 물질도 간섭하지 않습니다. 그러나 혈액 검체의 트리글리세라이드 농도가 높으면(>30g/l) gDNA 수율이 감소할 수 있습니다.

바이러스 혈액

바이러스 혈액 분석의 경우 용출량 60 μ l 의 DSP Virus Blood 200 프로토콜을 사용하여 검사했습니다. CMV 음성 혈액 검체에 상용 CMV 표준 500 copies/ml(저농도) 및 1×10^4 copies/ml(고농도, 그림 14)를 첨가했습니다.

용출액은 CMV real-time PCR 분석으로 분석했습니다.

표 9 에 나열된 어떠한 물질도 간섭하지 않습니다. 그러나 혈액 검체의 트리글리세라이드 농도가 높으면(>30g/l) 바이러스 DNA 순도가 감소할 수 있습니다.

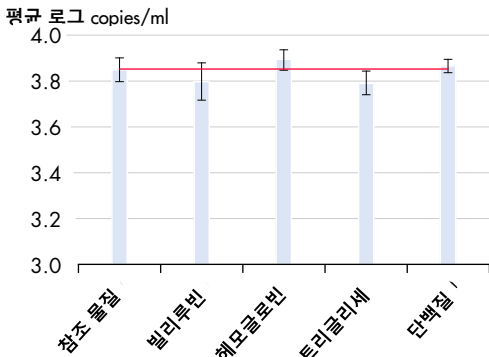


그림 14. 내인성 물질 검사. 전혈은 한 명의 건강한 헌혈자로부터 BD K2E 튜브에 채집한 후 CMV 표준 물질(역가 4.0 로그 copy/ml)을 첨가했습니다. 잠재적 억제제를 첨가하여 검체 5 개를 검사하고, QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit 및 용출량 165 μ l 의 Virus Blood 200 DSP 프로토콜을 사용하여 각 검체 복제본 4 개에서 바이러스 DNA 를 정제했습니다. 용출액은 CMV real-time PCR 분석으로 분석했습니다. 빨간색 선은 억제 물질을 첨가하지 않은 참조 검체에 대해 측정된 역가를 나타내고, 막대는 평균 로그 copies/ mm 및 표준 편차를 나타냅니다.

조직

DNA 조직(신선 및 냉동)의 경우 DSP DNA HC 프로토콜 및 용출량 200 μ l 를 사용하여 검사했습니다.

용출액은 DNA 수율 및 순도를 위해 분광 분석으로 분석했습니다. PCR 호환성은 real-time PCR 분석을 사용하여 검사했습니다.

표 9 에 나열된 어떠한 물질도 검체 준비에 부정적인 영향을 미치는 것으로 확인되지 않았습니다.

FFPE 조직

FFPE 조직의 경우 DSP DNA LC 프로토콜 및 용출량 50 μ l 를 사용하여 검사했습니다.

해당 물질(표 9 참고)을 용해물에 직접 첨가했습니다.

표 9. 다양한 분석에 대해 검사한 잠재적 간섭 물질

간섭 물질	용해물의 농도
크실렌	최대 11%
에탄올	최대 11%
탈파라핀 용액	최대 11%
파라핀	절편 0.1 μ M

용출액은 DNA 수율 및 순도를 위해 분광 분석으로 분석했습니다. PCR 호환성은 real-time PCR 및 Inhouse human 8-plex PCR 분석을 사용하여 검사했습니다.

표 9 에 나열된 어떠한 물질도 검체 준비에 부정적인 영향을 미치는 것으로 확인되지 않았습니다.

교차 오염


DNA 혈액

QIASymphony DNA 혈액 분석의 교차 오염 위험은 QIASymphony SP 기기에서 체커보드 배치를 번갈아 가며(양성 및 음성 검체를 교대로 사용) 96 개 검체를 4 회 실행하여 분석했으며 완전 음성 배치로 중단했습니다. 남성 혈액(WBC 수가 1.0×10^7 cells/ml 이상, 여성 혈액의 경우 WBC 수가 4.0×10^6 에서 9×10^6 cells/ml 사이)을 모델 시스템으로 사용했습니다. 검체 준비는 가장 많은 검체량을 다루는 Blood 1000 μ l 프로토콜을 사용하여 수행했습니다. 추출 실행 중 음성의 여성 검체에 대한 잠재적 오염은 Y 염색체에 대한 real-time PCR 분석을 사용하여 용출액의 후속 분석으로 평가했습니다.

검체 간, 배치 간 또는 실행 간 캐리오버에 대한 교차 오염이 감지되지 않았습니다.

기호

이 문서에는 다음 기호가 사용됩니다. 사용 지침이나 포장 및 라벨링에 사용된 전체 기호 목록은 안내서를 참고하십시오.

기호	기호 정의
	이 제품은 체외 진단 의료 기기에 대한 유럽 규정 2017/746 의 요구 사항을 충족합니다.
	체외 진단용 의료 기기
	카탈로그 번호
Rn	R 은 사용 설명서의 개정 버전을 나타내며, n 은 개정 번호입니다
	제조업체

개정 이력

개정판	설명
R1, 2022년 6월	버전 2, 개정본 1 <ul style="list-style-type: none">• IVDR 준수를 위해 버전 2 로 업데이트• 간섭 물질, 교차 오염, 용출액 안정성, 다운스트림 분석에 대한 호환성 섹션 추가

최신 라이선스 정보 및 제품별 면책 사항은 각 QIAGEN 키트 안내서 또는 사용 설명서를 참고하십시오. QIAGEN 키트 안내서와 사용 설명서는 www.qiagen.com 에서 확인하거나 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 요청할 수 있습니다.

상표: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, QIAamp®, EZ1®, UltraRun®(QIAGEN 그룹), BD™, Vacutainer®(Becton Dickinson and Company), Sarstedt®, S-Monovette®(Sarstedt AG and Co.). 이 문서에 사용된 등록된 이름, 상표 등은 별도로 표시되지 않은 경우에도 법적 보호를 받는 것으로 간주됩니다.

06/2022 HB-3029-D01-001 © 2022 QIAGEN, 모든 권리 보유.

