

2017年2月

QIAasymp[®]

SP實驗流程

circDNA_2000_DSP_V1 and circDNA_4000_DSP_V1

本文件為QIAasymp circ實驗流程circDNA_2000_DSP_V1 and circDNA_4000_DSP_V1，第一版，R1

一般資訊

僅供體外診斷使用。

本實驗流程為QIAsymphony SP，搭配QIAsymphony DSP Circulating DNA試藥組，純化來自新鮮或冷凍血漿與尿液的循環游離核酸。

試藥組	QIAsymphony 全自動化循環核酸診斷製備試藥組 (產品編號：937556)
樣本材料	人類血漿：EDTA或檸檬酸抗凝， 或ccfDNA穩定 人類尿液：不穩定或穩定
實驗流程名稱	circDNA_2000_DSP_V1 circDNA_4000_DSP_V1
預設實驗對照組	ACS_circDNA_2000_DSP_V1 ACS_circDNA_4000_DSP_V1
沖提體積	60µl
所需軟件版本	版本4.03或更高

「樣本」抽屜

樣本類型	人類血漿 (詳見「樣本材料製備」樣本材料的製備) 和 人類尿液 (穩定或不穩定)
樣本體積	依據所使用的樣本管類型 如需更多資訊，請在 www.qiagen.com 商品頁面資源標籤 下的實驗室用品列表中查詢。
主要樣本管	n/a
輔助樣本管	如需更多資訊，請在 www.qiagen.com 商品頁面資源標籤 下的實驗室用品列表中查詢。
嵌入物	n/a
其他	蛋白酶K必須加在樣品槽A (位置1和2)

n/a = 不適用

在「樣本」抽屜中製備蛋白酶K

QIAAsymphony DSP Circulating DNA試藥組含即用型蛋白酶K，可以在室溫下保存。

備註：含有蛋白酶K的試管應放在試管架中。含有蛋白酶K的試管放在「樣本」抽屜裡的樣品槽A，位置1和/ 或2。如需所需試管的型號資訊，請在www.qiagen.com商品頁面資源標籤下的實驗室用品列表中查詢。

樣本數量*	circDNA_2000_DSP	circDNA_4000_DSP
8	1980µl	2860µl
24	3740µl	6380µl
48	6380µl	11.660 ml†
96	11.660 ml	22.220 ml†

* 每個樣本，需要110 µl circDNA_2000_DSP或220 µl circDNA_4000_DSP，加上額外體積1100 µl ($n \times 110$ 或 $220 \mu\text{l}$) + 1100 µl]。

† 對於circDNA_4000_DSP：若處理超過48個樣本，則需要使用輔助管。每管最大裝載量為11,660 µl。對於輔助管，體積需額外增加1100 µl。

「試劑和耗材」抽屜

位置A1和/ 或A2	試劑匣
位置B1	n/a
吸管尖架支架1–18。	拋棄式過濾型吸管尖，200 微升或1500 微升
裝置箱架1–4	裝置箱包含樣本製備匣或8-磁棒蓋

n/a = 不適用

「廢棄物」抽屜

裝置箱架1–4	清空裝置箱
廢棄物袋架	廢棄物袋
廢液瓶架	清空廢液瓶

「沖提液」抽屜

沖提架 (建議使用樣品槽1, 冷卻位置) 如需更多資訊, 請在www.qiagen.com商品頁面資源標籤下的實驗室用品列表中查詢。

所需塑膠製品

實驗流程circDNA_2000_DSP

塑膠製品	一批 24個樣本*	兩批 48個樣本*	四批 96個樣本*
拋棄式過濾型吸管尖, 200 微升††	24	48	96
拋棄式過濾型吸管尖, 1500 微升††	64	120	232
樣本製備匣§	15	30	60
8-Rod Covers¶	3	6	12

* 每批樣本數少於24, 能減少每次操作拋棄式過濾型吸管尖的數量。

† 共有32個過濾型吸管尖/過濾型吸管尖架。

† 過濾型吸管尖, 包含每個試劑匣一次盤存掃描的數量。

§ 共有28個樣本製備匣/ 裝置箱。

¶ 共有12個8-磁棒蓋。

實驗流程circDNA_4000_DSP

塑膠製品	一批 24個樣本*	兩批 48個樣本*	四批 96個樣本*
拋棄式過濾型吸管尖，20 0 微升†‡	24	48	96
拋棄式過濾型吸管尖，150 0 微升†‡	104	200	392
樣本製備匣§	18	36	72
8-Rod Covers¶	3	6	12

* 每批樣本數少於24，能減少每次操作拋棄式過濾型吸管尖的數量。

† 共有32個過濾型吸管尖/過濾型吸管尖架。

‡ 過濾型吸管尖，包含每個試劑匣一次盤存掃描的數量。

§ 共有28個樣本製備匣/裝置箱。

¶ 共有12個8-磁棒蓋。

備註：依據設定不同，所提供的過濾型吸管尖數目可能會與觸控式螢幕上顯示的有所不同。建議裝載最大可能數量的吸管尖。

沖提體積

選擇沖提體積	起始沖提體積
60 µl	75 µl

沖提體積可以在觸控式螢幕上選擇。沖提體積平均為≥60 µl。在個別情況下，最終沖提體積可以比選擇體積最多少5 µl (如：55 µl)。當使用自動化設定系統時，在轉換前並不會確認沖提體積，建議確認實際沖提體積。

沖提液的儲存

建議在操作完成後馬上從「沖提液」抽屜中取出沖提盤。沖提盤留在QIAAsymphony SP已將近一晚 (包含操作時間最多16小時；建議環境條件：

18–26°C 和 20–75% 相對溼度)。依據溫度與濕度，沖提液可能發生濃縮或蒸發。

樣本製備後，沖提液可保存在2–8°C的環境中，長達1個月。若作長期儲存，沖提液應儲存在–20°C 或–80°C的環境中。冷凍沖提液不得反覆解凍超過3次。

樣本材料的製備

當操作化學藥品時，請穿戴合身的實驗衣、拋棄式手套與護目鏡。更多資訊，請參閱產品供應商提供相對應的安全資料表 (SDS)。

開始之前的注意事項

- 避免在樣本中或樣本上形成泡沫。
- 在開始操作前，樣本溫度應該先回復到室溫 (15–25°C)。

人類血漿

血漿置備可以EDTA或檸檬酸做為抗凝血劑處理血液樣本。也可以使用由ccfDNA穩定血液收集管製備的血漿。依據製造商的規定產生血漿。

建議在有使用EDTA或檸檬酸做為抗凝血劑的輸血情形下，立刻進行血漿分離術。

對於某些後續應用，排除或最小化來自囊泡的核酸的操作可能是必須的。這種情況，建議在起始血漿產生後，在室溫(15–25°C) 下，以16,000 x *g*高速離心10分鐘。

在收集與離心後，血漿最多可以儲存在室溫7天，而儲存在2–8°C的環境中最多則可達14天。為了達到更長時間的儲存時間，建議分裝冷凍在–20°C 或–80°C的環境中。冷凍血漿不得反覆解凍超過3次。反覆的冷凍解凍會造成蛋白質變性與沉澱，產生造成循環游離核酸產量降低的潛在可能。如果在樣本中看見冷凍沉澱物，在室溫 (15–25°C) 下，以6,800 x *g* 離心3分鐘，轉移上清液到輔助樣本管 (請參閱www.qiagen.com商品頁面資源標籤下的實驗室用品列表)。立刻進行純化過程。

人類尿液

由於尿液收集後循環游離核酸會迅速退化，強烈建議立即穩定尿液樣本。

人類尿液穩定化

穩定化的尿液可以儲存在室溫 (15–25°C) 或2–8°C ，最多7天。為了達到更長時間的儲存時間，建議分裝冷凍在–20°C 或–80°C的環境中。

穩定化的尿液樣本不需要樣本前處理。穩定後，在萃取循環游離核酸前，建議將尿液樣本在室溫 (15–25°C) 下，以低轉速 (1,900 x *g*) 離心10分鐘，去除細胞。離心後如果在上清液可見沉澱物，將樣本放在25°C水浴槽加溫來溶解沉澱物。開始操作前，將穩定化的尿液樣本轉移到輔助管，然後再裝備此管道樣本架上 (請參閱www.qiagen.com商品頁面資源標籤下的實驗室用品列表)。

人類尿液「未穩定化」

在進行流程前需要ATL緩衝液，確認ATL緩衝液裡是否有沉澱。如果需要，在70°C水浴槽中輕輕搖晃加熱溶解。從ATL緩衝液的表面引出氣泡。

備註：ATL緩衝液（ATL緩衝液，4 x 50 ml，商品編號：939016）不是QIAasympy DSP Circulating DNA試藥組的一部分，必須另外訂購。

建議尿液樣本在收集後，立刻在室溫（15–25°C）下，以低轉速（1,900 x *g*）離心10分鐘，去除細胞。未穩定化的尿液樣本需樣本前處理。

重要：前處理前樣本需要恢復到室溫（15–25°C）。

重要：離心與前處理需在尿液樣本收集後4小時內。

- 分別將2500 µl尿液（circDNA_2000_DSP）或4500 µl尿液（circDNA_4000_DSP）與250 µl或450 µl的ATL緩衝液混合。
- 樣本靜置在室溫（15–25°C）1小時。
- 樣本在室溫（15–25°C）下，以低轉速（1,900 x *g*）離心10分鐘。
離心後如果在上清液可見沉澱物，將樣本放在25°C水浴槽加溫來溶解沉澱物。
- 開始操作前，將穩定化的尿液樣本轉移到輔助管，然後再裝備此管道樣本載體上（請參閱www.qiagen.com商品頁面資源標籤下的實驗室用品列表）。

重要：循環游離核酸的穩定性與完整性在未穩定化尿液中受限。建議在每批QIAasympy SP操作時裝載不多於24個尿液樣本數，以最大限度降低上機時間。

干擾物質

血漿樣本具有高濃度的γ-球蛋白（> 30g / l），可能造成循環游離核酸回收率降低。

有關最新的認證訊息和特定產品免責聲明，請參閱相對應的QIAGEN試藥組手冊或用戶手冊。透過www.qiagen.com即可獲取QIAGEN試藥組手冊和用戶手冊，也可向QIAGEN 技術服務或您當地的經銷商索取。

