

目 录 (Table of Contents)

1. 实验原理 (Principle)	2
2. 样本的类型和拒收 (Specimen collection and rejection)	2
3. 安全防范(Safety Precautions).....	2
4. 试剂(Reagents).....	2
5. 仪器设备(Instruments).....	3
6. 质控(Quality Control).....	3
6.1 质控类型及频率(Quality Control Type and frequency).....	3
6.2 质控结果判断 (Determine of QC resuLts)	3
7. 操作步骤 (Steps Of The Flow)	3
QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (自动提取)	错误! 未定义书签。
7.1 注意事项.....	3
7.2 提取前准备.....	4
7.3 操作流程.....	4
8. 结果分析和解释 (Interpretation and analysis of Results).....	6
9. 参考文献(References).....	7

QIASymphony 自动提取外周血及骨髓基因组 DNA 作业指导书

(SOP for Qiasymphony automatic genomic DNA extraction from Blood and Bone marrow)

1. 实验原理 (Principle)

QIASymphony DSP DNA Kits 系列试剂盒可配套 QIASymphony SP 仪器用于从人类全血、白膜层、组织、FFPE 组织、培养的细胞及细菌等样本中进行 DNA 的自动化提取。QIASymphony SP 一个被相应保护套保护起来的磁力棒伸进含有样本的样品孔中并将磁珠吸附起来。磁力棒移动到另一样品孔的上方后将磁珠进行释放。一排共 24 个磁力棒，因此可同时对 24 个样本进行处理。该试剂盒的纯化步骤是为确保对潜在可感染样本进行处理时的安全性和可重复性而设计的，分为 4 步：裂解、吸附、洗涤以及洗脱。获取高质量核酸的基础上还能高效的去除蛋白、核酸酶以及其他杂质，得到的高品质核酸可直接适用于下游的多种应用，如测序或是诸如实时定量 PCR、RT-PCR 等较为灵敏的检测实验。

2. 样本的类型和拒收 (Specimen collection and rejection)

本检测接收的样本类型包括：

EDTA 抗凝外周血/骨髓样本；

枸橼酸盐抗凝外周血/骨髓样本。

3. 安全防范(Safety Precautions)

所有实验室的工作人员必须穿戴手套和工作服。

当离开实验室和进入办公室前必须脱掉手套。

所有接触过样品的手套，枪头和其他物件须丢弃在标有生物危害的垃圾箱中。

生物危害的垃圾必须每天适时的处理以保持清洁，尽量避免使用尖锐的物品和器具。

工作台在每天工作结束后用 75%酒精或 10%次氯酸钠溶液清洗，空间用紫外线照射 1h。

4. 试剂(Reagents)

步骤	产品名	生产商	货号	储存条件	有效期	备注
DNA 提取	QIASymphony DSP DNA Mini Kit	QIAGEN	937236	15-25°C	1 年	详细组分及数量参考试剂盒使用说明书
DNA 提取	核酸提取或纯化试剂 QIASymphony DSP DNA Midi Kit	QIAGEN	937255	15-25°C	1 年	详细组分及数量参考试剂盒使用说明书
DNA 提取	RNase A	QIAGEN	19101	15-25°C	1 年	NA
DNA 提取	无水乙醇(分析纯)	广州市西陇科学股份有	NA	15-25°C	未开封 3 年，开封后	室温储存于危险品储藏室，实验室可存放少量

		限公司			6 个月。	
DNA 提取	超纯水	西格玛	W4502	15-25°C	未 开 封 3 年，开封后 6 个月。	NA

说明：

- 1、所有试剂到货时应标记（R:具体日期+接收人姓名），开瓶时应标记（O:具体日期+接收人姓名）；
- 2、所有试剂均应在有效期内使用，如试剂标注为 x 年 x 月，默认试剂盒的有效期为有效期内的上月最后一天；
- 3、除非有特殊情况说明，否则不同批号的试剂不得混用。

5. 仪器设备(Instruments)

所在分区	仪器名称	型号	用途	校准及记录
602 样本处理房	生物安全柜	BioBase	提供实验操作平台	有资质的计量单位，每年
602 样本处理房	分光光度计	NanoDrop 2000/2000C	检测核酸质量	满足计量要求即可，品牌无特别要求
602 样本处理房	全自动核酸提取纯化仪	QIAasympHony SP	核酸提取纯化	厂家，每年

说明：由计量局校准的根据广州金域的评估选择有资质的计量局进行校准，如华南计量局、上海通标、广电计量局等，校准周期为 1 年。

6. 质控(Quality Control)

6.1 质控类型及频率(Quality Control Type and frequency)

空白对照（NTC）：每批次核酸提取时增加一无样品的提取管作为空白对照（标记为 NTC），与样本一起提取；若提取样本数较多时可考虑增加空白对照的个数。外周血/骨髓 NTC 的编号规则如下表。

提取方式	编号规则	举例	备注
自动提取	NTC-提取批次-流水号	NTC-tPD-20211126-1-1	20211126 外周血/骨髓 DNA 提取第 1 批第 1 个 NTC

6.2 质控结果判断（Determine of QC results）

NTC 浓度范围为-5~10ng/μL，如 NTC 浓度异常偏离应查找原因并整批重新提取。

NTC 浓度异常偏离原因有：1、提取过程中，样本管污染 NTC 管；2、空间环境清洁消毒不彻底。

7. 操作步骤（Steps Of The Flow）

7.1 注意事项

- 1) 用电安全：如果仪器的运行以任何方式被中止（如因电源或某个机械错误导致的中止），请首

先使用电源开关关闭仪器，然后从电源插座拔掉电源线，并与 QIAGEN 技术服务联系。

- 2) 电源线必须连接至有保护导体（通地/接地线）的电源插座。
- 3) 请勿调整或替换仪器内部部件。
- 4) 当仪器盖或部件拆除时，请勿运行仪器。
- 5) 如果有液体洒入仪器内部，请关掉仪器，将其与电源插座断开，并联系 QIAGEN 技术服务部门。
- 6) 不可使用漂白剂清洁或消毒 QIAAsymphony SP 仪器，漂白剂与缓冲剂中的盐类相接触可产生有毒烟雾。
- 7) 不可使用漂白剂消毒用过的器具，漂白剂与缓冲剂中的盐类相接触可产生有毒烟雾。
- 8) 避免在 QIAAsymphony SP 运转期间接触到移动部件，仪器必须在防护罩关闭状态下运行。如果防护罩传感器未正常工作，请联系 QIAGEN 技术服务部。
- 9) 裂解台和 UV 灯均可达到最高 70° C (158° F) 的温度，避免在运行过程中接触它们。
- 10) 决不可用酒精或含酒精的溶液清洁仪器罩或侧面板。酒精将损害罩和侧面板，使用蒸馏水清洁罩和侧面板。
- 11) 运行结束，卸载所有试剂耗材，如果试剂还有剩余，从机器中卸下试剂，用封条封好，防止蒸发，室温避光保存。清空废弃物收集盒，更换垃圾袋。
- 12) 废弃物处理：纯化或反应体系构建过程中使用过的耗材，如样本试管、样本制备卡夹、8 位磁棒套、一次性带滤芯枪头、试剂试管及洗脱架等可能包含危险化学品或感染性病原体。必须收集这些废弃物并根据当地的安全性法规妥善处理。

7.2 提取前准备

试剂配制：

- ① 80%乙醇：在量筒倒入 80mL 的无水乙醇，再加入纯水至 100mL，充分混匀保存到一个新的干净容器即可。
- ② RNA 酶稀释液：在一个新的 10ml 离心管中加入 3.75mL RNA 酶和 2.4mL 纯水，充分混匀即可。

7.3 操作流程

- 1) 开机前确保所有抽屉和门都是关闭的，按下位于 QIAAsymphony SP 仪器左下部的电源开关，开机，仪器初始化，仪器进行自检，检查机电功能是否正常。在初始化过程中，QIAAsymphony SP 进行以下可见操作：
 - ① 裂解台上下移动至到达其原位；
 - ② 传送装置左右移动直至抵至其原位；
 - ③ 磁头的磁/磁棒套孔板上下移动，直至抵至其原位；
 - ④ 条形码照相机和样本输入抽屉的LED 初始化；

备注：若需要从机器手释放试剂条，机械臂将移至位置 4 的试管废弃物（样本制备卡夹 Sample prep

cartridges 或 8 位磁棒套 8-Rod Covers），请注意位置 4 的单元匣必须为空，此后，机械臂移至枪头废弃槽，去除相连的任何枪头，机械臂移至其原位。

- 2) 初始化完成后，点击触摸屏右上角的 login，选择用户“supervisor”，输入密码“*****”；
- 3) 取出试剂盒里的试剂，卸下黑色的磁珠槽，混匀数分钟，装回原位。

① 如果是新试剂，把试剂装入试剂条基座，把酶条的盖子打开，并放在试剂条基座突出位置，把穿孔盖放置在试剂条基座中试剂条的顶部。在试剂条被加载到抽屉中时，QIASymphony SP 的穿孔装置会下压穿孔盖到试剂槽上。

② 如果是旧试剂，打开试剂盒密封条，把试剂装入试剂条基座，把酶条的盖子打开，并放在试剂条基座突出位置，把试剂条加载到抽屉中。

③ 在“Reagents and Consumables”抽屉内装载试剂与耗材，关闭“Reagents and Consumables”抽屉，出现对话框，‘yes’代表扫描所有耗材，‘No.nothing changed’代表没有做任何变动，不扫描。

备注：每天在进行提取第一批标本前，都需要对所有的试剂、耗材进行扫描，选择‘yes’，点击‘Scan’，进行整体扫描（约 15 分钟）。如果在中途拉开此抽屉，没有做任何试剂耗材的添加或减少，可以点击‘No.nothing changed’，否则、在添加或减少的试剂或耗材选择‘yes’，点击‘Scan’，进行扫描，方能继续检测。

- 4) 打开 Waste 抽屉，装载废弃物收集盒，其中 slot4（最外面的废物盒）必须是空，因为在初始化过程中，机械手下移到了位置 4 的单元匣中，如果不为空，机械手将发生碰撞。关闭此抽屉，出现对话框“Do you want to start the inventory scan on “waste”?” ‘Scan’ 代表扫描所有耗材，‘No.nothing changed’ 代表没有做任何变动，不扫描。

- 5) 装载洗脱模块和洗脱容器，在洗脱容器中放置新的收集管，贴上 NTC 的标签，拉开‘eluate’抽屉，在‘slot1’位置放好样品收集板，点击‘slot1’，点击选定 Configure，在右边的列表中点击 Tube 2.0，选择 SAR#72.693；关上此抽屉，点击‘ok’，仪器进行此抽屉的扫描。

- 6) 装载 IC，把 RNA 酶稀释液插入 24 孔样本架，然后将样本架装载到“sample drawer”最后一列“A”，点击“IC”，

① 选择装有 RNA 酶稀释液的样本架的位置并选择样本管类型（例如样本架前 2 个位置装了 RNA 酶稀释液，则选中 1 和 2，点击“IC Tubes”，点击 Tube Insert 3B，选择 Tube 2.0，选择 SAR#72.693）。

② 选择完样本管类型后，对样本进行标本类型的选择，点击“Edit IC”，点击“Optional”，选择“CR23724-ID4736”，点击“OK”。

备注：以上步骤针对需要加 RNA 酶进行提取的样本，如果不需要加 RNA 酶提取就不需要进行此步骤。

- 7) 装载样本，扫描。将准备好的血液样本管插入 24 孔样本架，然后将样本架装载到‘sample drawer’。
装载方法：打开‘sample’门，推入样本架，样本架推至黑线处，稍许停留，待扫描器出来，信号

灯闪烁后，再推入样本架，正常进入后，信号灯为橙色，如果为红色，请重新再试。

- 8) 点击‘SP Batch’(蓝色)，进入 Sample Tube Selection 界面，选中所有要处理的样本，点击 Tube Insert 1A，选择 GR#454020，(如果一次做 24 个样品，可以选中‘Select All’再点击 Tube Insert，选择 GR#454020)，点击‘Next’。
- 9) 进入：Assign assay control sets to sample and/or check automatic work list assignments 界面，选择要处理样本，选定所需要的预设程序：
 - ① 上样量为 200μL：KingMed，选定：B200-X，选定样品编号出现一个手掌即为设定完成，点击‘Next’。
 - ② 上样量为 200μL：KingMed，选定 B200-IC-X(此程序为加 RNA 酶稀释液进行提取)，选定样品编号出现一个手掌即为设定完成，点击‘Next’。
 - ③ 上样量为 400μL：Blood DNA test 2022，选定：B400 80ETOH-RNase，选定样品编号出现一个手掌即为设定完成，点击‘Next’。
 - ④ 上样量为 1000μL：Blood DNA test 2022，选定：B1000 80ETOH-RNase，选定样品编号出现一个手掌即为设定完成，点击‘Next’。

备注：根据样本提取要求，选定程序。
- 10) 进入 select elution slot and volume 界面，点击选择 Slots1,选择洗脱体积（50μL 或 100μL 或 200μL 或 400μL 或 500μL）；点击样本程序中的“Queue”按钮，仪器扫描收集板 30 秒后，页面自动返回 Sample preparation 并点击“Run”按钮，运行程序。
- 11) 当程序运行了 16min，‘sample drawer’的信号灯变为橙色后，可以把血液样本的样本架拉出来，盖上新盖子，并在盖子上贴上编号标签，编号规则：批次-编号。
- 12) 程序运行结束后，仪器蓝灯条闪烁，打开‘elution’抽屉，取出收集板分别盖上收集管的盖子，进行编号，把 NTC 摆放在能看到标签的位置上进行拍照，把照片保存在指定的地址，再按照血液标签的实验号一一对应贴上打印出来的条码标签在收集管身上，最后进行双人核对收集管和血液条码标签是否一致。
- 13) 核对确认无误后，把每一批的 NTC 和随机一个样本进行浓度测定，导出.Xml 格式数据保存在指定位置。
- 14) 把上机排版顺序、试剂批号、试剂有效期、使用仪器、照片和浓度数据录入分子系统，核实无误后，进行双人审核，提交到下一个检测岗位。
- 15) 分发核酸给相应的检测组进行后续检测。

8. 结果分析和解释 (Interpretation and analysis of Results)

DNA 的 A260/A280 在 1.80~2.2 间，代表其纯度较好，若低于 1.8 则可能存在蛋白污染，若高于

2.2 则可能存在 RNA 污染。A260 值=1 时，dsDNA 浓度约为 50 μ g / ml，实际提取的 DNA 的浓度=A260 值 \times 50 μ g / ml \times 稀释倍数。

9. 参考文献(References)

1. Qiagen 《核酸提取纯化分析仪 QIAsymphony® SP》；
2. Qiagen 《QIAsymphony® DSP DNA Handbook》。