




Performans Özellikleri

QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue Kiti, Sürüm 1 **REF** 60404

Sürüm yönetimi

Bu belge, QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kiti Performans Özellikleri, Sürüm 1, R3 belgesidir.

  	Testi gerçekleştirmeden önce www.qiagen.com/HB-0414 adresinde yeni elektronik etiketleme revizyonlarının varlığını kontrol edin. Mevcut revizyon durumu yayın tarihiyle (format: ay/yıl) belirtilir.
---	--

Aşağı yönde analiz

Elüe edilen genomik DNA, çeşitli in vitro diagnostik aşağı yönde miktar tayinleri dahil olmak üzere farklı aşağı yönde miktar tayinlerinde kullanıma hazırdır. Spesifik sistem performansı hakkında daha fazla bilgi için ilgili QIAGEN kiti el kitabına başvurun.

Saflaştırılmış DNA ürünü

Formalinle fikse edilmiş ve parafine gömülmüş (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE) numuneler, yüksek derecede doku heterojenliği sergileyebilir. Ayrıca FFPE numunelerinde doku yüzey alanı çok değişkendir ve bu durum ekstre edilen DNA miktarında değişkenliğe neden olur. Dolayısıyla kullanıcı, ilgili numuneleri ve laboratuvarında kullanılan prosedürler için kesit sayısını, kesit kalınlığını ve kesit yüzey alanını optimize etmelidir.

Kit bir QIAGEN aşağı yönde uygulaması ile birlikte kullanılıyorsa talimatlar için ilgili el kitabına başvurun.

FFPE doku hazırlama sırasında yetersiz doku dehidratasyonu, ekstraksiyon tüpüne numuneyle birlikte çok fazla parafin konulması, önerilenden daha düşük saflıkta (moleküler biyoloji sınıfı olmayan) etanol kullanılması veya numunede ksilen veya etanol kalması, optimumun altında ekstraksiyona ve düşük DNA miktarına neden olabilir.

Tekrarlanabilirlik

Tekrarlanabilirlik, formalinle fikse edilmiş ve parafine gömülmüş insan hücrelerinden oluşturulan altı FFPE hücre dizisi kullanılarak değerlendirilmiştir. Numuneler, QuantiTect® SYBR® Green mastermix ve β -aktin gene özgü primerler ile Rotor-Gene® Q gerçek zamanlı PCR döngüleyici ile test edilmiştir. PCR reaksiyonları, insan β -aktin geninin 174 bp fragmanı ve 218 bp fragmanı için gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel analiz için, her fragman boyutu için 72 veri noktası kullanılmıştır. Standart sapma (standard deviation, SD) ve üst ve alt %95 güven limitleri hesaplamasına istatistiksel analiz dahil edilmiştir. Varyasyon, 218 bp fragmanı için standart sapma olarak varyans bileşen analizi kullanılarak hesaplanmıştır (SD: 0,342 C_T ; alt %95 güven limiti: 0,291; üst %95 güven limiti: 0,413). Bu sonuç, ekstraksiyon işlemi için tekrarlanabilirlik tahmini olarak kullanılabilir. 174 bp fragmanı için hesaplanan varyasyon 0,258 C_T ; alt %95 güven limiti: 0,220; üst %95 güven limiti: 0,312'dir.

Yeniden üretilebilirlik

Yeniden üretilebilirlik değerlendirmesi; küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) dokularını içeren üç klinik FFPE örneği kullanılan üç laboratuvar da gerçekleştirilmiştir; bu örneklerden biri delesyon 6223 mutasyonu, biri L858R mutasyonu ve biri de doğal tip (wild-type, WT) örnek içermiştir. Klinik FFPE örnekleri, Sanger dizilemesine göre bilinen mutasyon durumları temelinde seçilmiştir.

Her mutant klinik FFPE örneği için 48 ardışık FFPE kesiti ekstraksiyonda kullanılmak üzere çiftler halinde randomize edilmiş ve her test merkezi için bir seri olmak üzere üç seriye bölünmüştür.

Ekstraksiyonlar her test merkezinde çift olarak gerçekleştirilmiştir. Her merkezde ekstraksiyon için benzersiz bir QIAamp FFPE DNA DSP Kit lotu kullanılmıştır. Üç merkezde de numune değerlendirme ve mutasyon değerlendirme *therascreen* EGFR RGQ PCR Kiti kullanılarak yapılmıştır. Numuneler altı günlük bir dönemde üç ardışık olmayan günde test edilmiştir. Her örnek her bir merkezde altı defa test edilerek, toplamda örnek başına 18 veri noktası sağlamıştır.

Üç merkezdeki tüm numunelerde %100 doğru mutasyon çağırma ortaya konulmuştur.

Doğrusallık

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kiti, farklı doku tiplerinden DNA izolasyonu için kullanılabilir. Müşterinin gerekliliklerine göre doğrusal aralık belirlenmeli ve ilgili kullanım için doğrulanmalıdır. Sistemdeki doku yüküne ve doku özelliklerine bağlı olarak, farklı doku tipleri için farklı doğrusal aralıklar beklenmektedir.

Engelleyici maddeler

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kiti, farklı doku tiplerinden DNA izolasyonu için kullanılabilir. Potansiyel engelleyici maddeler farklı kaynaklardan gelebilir: örneğin, doku tipi ve organa özgü doğal metabolitler, patolojik durumlar sırasında üretilen metabolitler, hastanın tedavisi sırasında alınan maddeler veya hasta tarafından yutulan maddeler. Potansiyel engelleyici maddelerin karmaşıklığı ve belirli aşağı yönde uygulamaların farklı hassasiyeti nedeniyle, kullanıcıların kendi sistemleri için engelleyici maddelerin etkisini değerlendirmeleri ve kendi özel diagnostik aşağı yönde uygulamalarında engelleme kontrol yöntemini değerlendirmeleri tavsiye edilir.

Belirli QIAGEN aşağı yönde uygulamalarındaki engelleyici maddeler hakkında daha fazla bilgi için kit el kitaplarına başvurun.

Çapraz kontaminasyon

Çapraz kontaminasyon düzeyini değerlendirmek için iki FFPE hücre dizisi KHDAK numunesi kullanılmıştır: doğal tip ve ekson 21 L858R mutasyonunu barındıran FFPE hücre dizisi numunesi. Çalışmada, yüksek düzeyde mutasyon içeren numunelerin ekstraksiyon prosedüründe diğer numunelerde çapraz kontaminasyona neden olabileceği durumların taklit edilmesi amaçlanmıştır. Doğal tip numunelerin yanında konumlandırılan L858R mutant numunelerden reaktif lotlarından birini kullanarak DNA saflaştırma yoluyla, prosedürü sorgulamak için DNA saflaştırması gerçekleştirilmiştir. Çapraz kontaminasyon, *therascreen*[®] EGFR RGQ PCR Kiti kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar, sistemin tamamında herhangi bir çapraz kontaminasyon göstermemiştir.

Pyrosequencing[®] için QIAamp DSP DNA FFPE DNA elüatı performansı

FFPE dokusundan izole edilen DNA, *therascreen* EGFR Pyro Miktar Tayini kullanılarak analiz için 2 ng/μl DNA konsantrasyonuna seyreltilmiştir. Performans özelliklerinin belirlenmesi için yapılan tüm tekraralarda, sinyal tüm kodonlar için 30 RLU (relative light unit, bağlı ışık birimi) üzerinde olmuş ve numunelerin tümünde mutasyon analizi açısından doğru tıbbi sonuç alınmıştır.

Elüat stabilitesi

Elüat stabilitesi birlikte saflaştırılan safsızlıkların (doku tipiyle ilişkili) içeriği ve tipi, elüsyon hacmi ve saklama koşullarına bağlıdır. Kullanıcıların kendi özel gerekliliklerine göre elüat stabilitesini belirlemeleri tavsiye edilir.

Kit bir QIAGEN aşağı yönde uygulaması ile birlikte kullanılıyorsa talimatlar için ilgili kit el kitabına başvurun.

Güncel lisans bilgileri ve ürüne özgü yasal uyarılar için ilgili QIAGEN® kiti el kitabına veya kullanım kılavuzuna bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servisi veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Ticari markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QuantiTect®, Pyrosequencing®, Rotor-Gene®, theascreen® (QIAGEN Group); SYBR® (Thermo Fisher Scientific Inc).

© 2017 QIAGEN, tüm hakları saklıdır. 02/2017 HB-0414-D01

Ordering www.qiagen.com/contact | Technical Support support.qiagen.com | Website www.qiagen.com