




Leistungsmerkmale

QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue Kit, Version 1 **REF** 60404

Versionsmanagement

Bei dem vorliegenden Dokument handelt es sich um die Leistungsmerkmale des QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kits, Version 1, R3.

  	Prüfen Sie vor einer Testausführung die Verfügbarkeit neuer elektronischer Etikettierungsrevisionen im Internet unter www.qiagen.com/HB-0414 . Der aktuelle Revisionsstand wird durch das Veröffentlichungsdatum angegeben (Format: Monat/Jahr).
---	---

Im Anschluss durchgeführte Analysen

Eluierte genomische DNA kann für verschiedene im Anschluss durchgeführte Assays verwendet werden, einschließlich für verschiedene In-vitro-Diagnostikassays. Weitere Informationen über die Leistung des jeweiligen Systems finden Sie im Handbuch für das jeweilige QIAGEN-Kit.

Ausbeute an gereinigter DNA

Formalinfixierte, in Paraffin eingebettete (Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) Proben weisen mitunter beträchtliche Gewebheterogenität auf. Darüber hinaus schwankt die Größe der Gewebeoberfläche bei FFPE-Proben erheblich, was zu Variabilität hinsichtlich der Menge an extrahierter DNA führt. Der Benutzer sollte daher die Anzahl der Schnitte, die Schnittdicke und die Schnittfläche hinsichtlich der jeweils relevanten Probe und der im jeweiligen Labor durchgeführten Verfahren optimieren.

Wird das Kit in Verbindung mit einer späteren QIAGEN-Anwendung verwendet, sind die Anweisungen in dem entsprechenden Handbuch zu beachten.

Eine unzureichende Entwässerung des Gewebes während der Vorbereitung des FFPE-Gewebes, ein zu hoher Paraffingehalt in der Probe, die in das Extraktionsröhrchen gegeben wird, die

Verwendung von Ethanol, das nicht den empfohlenen Reinheitsgrad aufweist (d. h. die Verwendung von Ethanol mit nicht für die Molekularbiologie geeigneter Qualität), oder das Vorhandensein von Xylen- oder Ethanolrückständen in der Probe kann zu einer suboptimalen Extraktion und zu einer geringen DNA-Menge führen.

Wiederholbarkeit

Die Wiederholbarkeit wurde mithilfe von sechs FFPE-Zelllinien bewertet, die aus formalinfixierten und in Paraffin eingebetteten humanen Zellen erzeugt worden waren. Die Proben wurden mit QuantiTect® SYBR® Green-Mastermix und β -Actin-Gen-spezifischen Primern im Rotor-Gene® Q Echtzeit-PCR-Cycler getestet. Die PCR-Reaktionen wurden mit einem 174-bp-Fragment und mit einem 218-bp-Fragment des humanen β -Actin-Gens durchgeführt.

Für die statistische Auswertung wurden 72 Datenpunkte für jede Fragmentgröße herangezogen. Die statistische Analyse umfasste die Berechnung der Standardabweichung (Standard Deviation, SD) und der oberen und unteren 95%-Vertrauensgrenzen. Die Variation wurde mithilfe einer Varianzkomponentenanalyse als Standardabweichung für das 218-bp-Fragment (SD: 0,342 C_T ; untere 95%-Vertrauensgrenze: 0,291; obere 95%-Vertrauensgrenze: 0,413) geschätzt. Dieser Wert kann als Schätzwert der Wiederholbarkeit des Extraktionsprozesses verwendet werden. Die geschätzte Varianz für das 174-bp-Fragment betrug 0,258 C_T ; untere 95%-Vertrauensgrenze: 0,220; obere 95%-Vertrauensgrenze: 0,312.

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit wurde in drei Labors unter Verwendung von drei klinischen FFPE-Proben mit Gewebe aus nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen (Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC) beurteilt: eine Probe enthielt eine Deletionsmutation (COSM6223), eine Probe enthielt die Mutation L858R und eine Probe war eine Wildtyp (wild-type, WT)-Probe. Die klinischen FFPE-Proben wurden auf der Grundlage ihres bekannten Mutationsstatus nach Sanger-Sequenzierung ausgewählt.

Von jeder klinischen FFPE-Probe mit Mutation wurden 48 aufeinander folgende FFPE-Schnitte paarweise randomisiert, um extrahiert und dann in drei Chargen aufgeteilt zu werden, d. h. eine Charge für jede Prüfstelle.

In jedem Testlabor wurden die Extraktionen in Doppelbestimmungen durchgeführt. Jedes Testlabor verwendete für die Extraktion QIAamp FFPE DNA DSP Kits aus jeweils derselben Charge. Die Beurteilungen der Proben und die Beurteilungen der Mutationen wurden in allen drei Testlabors mit dem *therascreen* EGFR RGQ PCR Kit durchgeführt. Die Proben wurden über einen Zeitraum von sechs Tagen an drei nicht aufeinander folgenden Tagen getestet. In jedem Testlabor wurde jede Probe sechs Mal getestet, d. h. es wurden 18 Datenpunkte pro Probe gewonnen.

Mit allen Proben und in allen drei Testlabors wurden die Mutationen zu 100 % korrekt nachgewiesen.

Linearität

Das QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit kann für die Isolierung von DNA aus verschiedenen Gewebetypen verwendet werden. Der Kunde sollte seinen eigenen Anforderungen entsprechend einen linearen Bereich ermitteln und für den jeweiligen Gebrauch validieren. Es ist davon auszugehen, dass für verschiedene Gewebetypen je nach Gewebeeintrag in das System und je nach den Gewebeeigenschaften unterschiedliche lineare Bereiche erhalten werden.

Störsubstanzen

Das QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit kann für die Isolierung von DNA aus verschiedenen Gewebetypen verwendet werden. Potenzielle Störsubstanzen können unterschiedlicher Herkunft sein, z. B. kann es sich dabei um natürliche Abbauprodukte handeln, die für den jeweiligen Gewebetyp und das jeweilige Organ spezifisch sind, um Abbauprodukte, die unter pathologischen Bedingungen gebildet werden, um Substanzen, die während der Behandlung des Patienten zugeführt wurden, oder um Substanzen, die vom Patienten selbst aufgenommen wurden. Aufgrund der Komplexität potenzieller Störsubstanzen und der unterschiedlichen Sensitivität der konkreten, im Anschluss durchgeführten Anwendungen empfehlen wir, dass die Anwender die Auswirkung der Störsubstanzen in ihren eigenen Systemen bewerten und die Methode zur Kontrolle von Interferenzen in ihrer jeweiligen anschließend durchgeführten Diagnostikanwendung selbst validieren.

Bezüglich Informationen über Störsubstanzen in anschließend durchgeführten QIAGEN-Anwendungen sind die Handbücher der jeweiligen Kits zu beachten.

Kreuzkontamination

Zur Beurteilung des Grades der Kreuzkontamination wurden zwei FFPE-Proben aus NSCLC-Zelllinien verwendet: eine Wildtyp-Zelllinie und die FFPE-Zelllinie mit der L858R-Mutation in Exon 21. Die Studie zielte darauf ab, die Situation nachzuahmen, in der Proben während der Extraktion unter Umständen mit anderen Proben mit hohem Mutationsgrad kreuzkontaminiert werden. Zur Überprüfung des Verfahrens wurde DNA aus Proben mit L858R-Mutation und aus Wildtyp-Proben gereinigt, die nebeneinander standen. Es wurden Reagenzien jeweils derselben Charge verwendet. Die Kreuzkontamination wurde mit dem *therascreen*[®] EGFR RGQ PCR Kit geprüft. Die Ergebnisse zeigten im gesamten System keinerlei Kreuzkontamination.

Leistung des QIAamp DSP DNA FFPE DNA-Eluats beim Pyrosequencing[®]

Aus FFPE-Gewebe isolierte DNA wurde auf eine DNA-Konzentration von 2 ng/µl verdünnt und für die Analyse mit dem *therascreen* EGFR Pyro Assay verwendet. In jedem Durchgang zur Ermittlung der Leistungsmerkmale lag das Signal für alle Codons bei über 30 RLU (Relative Light Units), und alle Proben lieferten ein korrektes medizinisches Ergebnis hinsichtlich der Mutationsanalyse.

Eluatstabilität

Die Eluatstabilität hängt davon ab, wie viel Verunreinigungen (im Zusammenhang mit dem Gewebetyp) bei der Aufreinigung mitgeführt werden und welcher Art diese Verunreinigungen sind, sowie vom Elutionsvolumen und von den Aufbewahrungsbedingungen. Wir empfehlen, dass die Anwender die Eluatstabilität im Zusammenhang unter den jeweils vorliegenden Bedingungen selbst ermitteln.

Wird das Kit als Vorstufe für eine spätere QIAGEN-Anwendung verwendet, sind die Anweisungen in dem entsprechenden Kit-Handbuch zu beachten.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische rechtliche Hinweise finden Sie im Handbuch des jeweiligen QIAGEN[®]-Kits. Diese stehen unter www.qiagen.com zur Verfügung oder können vom Technischen Service von QIAGEN oder dem für Sie zuständigen Außendienstmitarbeiter oder Distributor angefordert werden.

Markennamen: QIAGEN[®], Sample to Insight[®], QIAamp[®], QuantiTect[®], Pyrosequencing[®], Rotor-Gene[®], *therascreen*[®] (QIAGEN Gruppe); SYBR[®] (Thermo Fisher Scientific Inc).

Bestellungen www.qiagen.com/contact | Technischer Support support.qiagen.com | Website www.qiagen.com