




# Značilnosti

Komplet QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue, različica 1 **REF** 60404

Upravljanje različice

Ta dokument je Lastnosti kompleta QIAamp DSP DNA FFPE Tissue, različica 1, R3.

  	<p>Preden izvedete teste, preverite, ali so na voljo nove spremembe elektronskega označevanja na <a href="http://www.qiagen.com/HB-0414">www.qiagen.com/HB-0414</a>. Status trenutno veljavnih sprememb je označen z datumom izdaje (oblika: mesec/leto).</p>
---	---

## Zaključna analiza

Eluirana genomska DNA je pripravljena za uporabo v različnih zaključnih testih, vključno v različnih diagnostičnih zaključnih testih in vitro. Več informacij o učinkovitosti posameznega sistema je na voljo v priročniku za zadevni komplet znamke QIAGEN.

## Izkoristek očiščene DNA

V vzorcih, fiksiranih s formalinom in vklopljenih v parafin (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE), je lahko prisotna višja stopnja heterogenosti tkiva. Poleg tega se površina tkiva v vzorcih FFPE zelo razlikuje, zaradi česar je tudi količina ekstrahirane DNA zelo različna. Uporabnik mora zato optimizirati število rezin, njihovo debelino in površino za preiskovani vzorec in katere koli postopke, ki se bodo izvajali v laboratoriju.

Če boste komplet uporabljali v povezavi z zaključnim postopkom s kompletom znamke QIAGEN, preberite navodila v zadevnem priročniku.

Nezadostna izsušitev tkiva med pripravo tkiva FFPE, prevelika količina parafina, danega v ekstrakcijsko epruveto skupaj z vzorcem, uporaba etanola, katerega čistost je manjša od priporočene (etanola, ki ni primerne kakovosti za molekularno biologijo), ali ohranitev ksilena ali etanola v vzorcu lahko povzroči neoptimalno ekstrakcijo in majhno količino DNA.

## Ponovljivost

Ponovljivost je bila ovrednotena s šestimi celičnimi linijami FFPE, pridobljenimi iz človeških celic, fiksiranih s formalinom in vklopljenih v parafin. Vzorci so bili testirani z izhodiščno zmesjo QuantiTect® SYBR® Green in začetnimi oligonukleotidi, specifičnimi za gen  $\beta$ -aktin, v kombinaciji s cikličnim termostatom za PCR v realnem času Rotor-Gene® Q. Reakcije PCR so bile izvedene za fragment človeškega gena  $\beta$ -aktina, dolg 174 bp, in fragment, dolg 218 bp.

Za statistično analizo je bilo uporabljenih 72 podatkovnih točk za vsako velikost fragmenta. Statistična analiza je zajemala izračun standardnega odmika (standard deviation, SD) ter zgornje in spodnje meje 95-odstotnega intervala zaupanja. Varianca je bila ocenjena z analizo komponent variance kot standardni odmik za fragment, dolg 218 bp (SD: 0,342 C<sub>T</sub>; spodnja meja 95-odstotnega intervala zaupanja: 0,291; zgornja meja 95-odstotnega intervala zaupanja: 0,413). To se lahko uporabi kot ocena ponovljivosti za postopek ekstrakcije. Ocenjena variacija za fragment, dolg 174 bp, je bila 0,258 C<sub>T</sub>; spodnja meja 95-odstotnega intervala zaupanja: 0,220; zgornja meja 95-odstotnega intervala zaupanja: 0,312.

## Obnovljivost

Obnovljivost je bila ocenjena v treh laboratorijih s tremi kliničnimi vzorci FFPE, ki so vsebovali tkivo z nedrobnoceličnim rakom pljuč (non-small cell lung cancer, NSCLC): pri enem je bila prisotna delecija mutacija gena 6223, pri drugem mutacija gena L858R, tretji pa je bil vzorec divjega tipa (wild type, WT). Klinični vzorci FFPE so bili izbrani na podlagi njihovega stanja mutacije, ugotovljenega s sekvenciranjem s Sangerjevo metodo.

Pri vsakem mutantnem kliničnem vzorcu FFPE je bilo 48 zaporednih delov FFPE randomiziranih v pare, ki so bili nato uporabljeni pri ekstrakciji, in razdeljenih v tri serije, po eno serijo za vsako mesto testiranja.

Na vsakem mestu testiranja je bila ekstrakcija opravljena dvakrat. Povsod je bila uporabljena ena edinstvena serija kompletov QIAamp FFPE DNA DSP za ekstrakcijo. Vzorci in mutacije so bili na vseh treh mestih testiranja ocenjeni s kompletom *therascreen* EGFR RGQ PCR. Vzorci so bili testirani tri nezaporedne dni v šestih dneh. Vsak vzorec je bil na vsakem mestu testiranja testiran šestkrat, kar pomeni, da je bilo za posamezen vzorec dobljenih skupno 18 podatkovnih točk.

Na vseh treh mestih testiranja so bile pri vseh vzorcih analize mutacij 100-odstotno pravilne.

## Linearnost

Komplet QIAamp DSP DNA FFPE Tissue se lahko uporablja za izolacijo DNA iz različnih vrst tkiva. Določiti je treba linearno območje glede na potrebe kupca in ga validirati za določeno uporabo. Pričakuje se, da bodo linearna območja različna za različne vrste tkiva, saj bodo odvisna od količine tkiva v sistemu in njegovih lastnosti.

## Moteče snovi

Komplet QIAamp DSP DNA FFPE Tissue se lahko uporablja za izolacijo DNA iz različnih vrst tkiva. Možne moteče snovi lahko pridejo iz različnih virov, med njimi so lahko naravni presnovki, specifični za določeno vrsto tkiva in organa, presnovki, nastali med patološkimi stanji, snovi, vnesene med zdravljenjem bolnika, ali snovi, ki jih je bolnik zaužil. Zaradi kompleksnosti možnih motečih snovi in različne občutljivosti posameznih zaključnih postopkov priporočamo, da uporabniki ocenijo vpliv motečih snovi na njihov sistem in validirajo metodo nadzora nad motečimi snovmi pri posameznih diagnostičnih zaključnih postopkih, ki jih uporabljajo.

Več informacij o motečih snoveh pri posameznih zaključnih postopkih s kompleti znamke QIAGEN je na voljo v priročnikih za komplete.

## Navzkrižna kontaminacija

Stopnja navzkrižne kontaminacije je bila ocenjena z dvema vzorcema celičnih linij FFPE z nedrobnoceličnim rakom pljuč: vzorcem divjega tipa in vzorcem celičnih linij FFPE s prisotno mutacijo v eksonu gena 21 L858R. Namen študije je bil posnemati stanje, ko vzorci, ki vsebujejo visoko stopnjo mutacije, med postopkom ekstrakcije lahko navzkrižno kontaminirajo druge vzorce. Izveden je bil postopek čiščenja DNA, da bi ugotovili, kaj se zgodi pri čiščenju DNA iz mutantnih vzorcev L858R, ki so poleg vzorcev divjega tipa, z eno serijo reagentov. Navzkrižna kontaminacija je bila ocenjena s kompletom *therascreen*<sup>®</sup> EGFR RGQ PCR. Rezultati so pokazali, da v nobenem delu sistema ni prišlo do navzkrižne kontaminacije.

## Učinkovitost eluata QIAamp DSP DNA FFPE DNA pri postopku Pyrosequencing<sup>®</sup> (pirosekvenciranje)

DNA, izolirana iz tkiva FFPE, je bila razredčena, tako da je bila dobljena koncentracija DNA 2 ng/ $\mu$ l, ki je bila nato uporabljena za analizo s testom *therascreen* EGFR Pyro. Pri vseh ponovitvah testa za določitev lastnosti je bil signal pri vseh kodonih nad 30 RLU (relativna svetlobna enota) in tudi rezultati analize mutacij so bili pravilni za vse vzorce.

---

## Stabilnost eluata

Stabilnost eluata je odvisna od vsebnosti in vrste sočasno očiščenih nečistot (glede na vrsto tkiva), elucijskega volumna in pogojev shranjevanja. Priporočamo, da uporabniki določijo stabilnost eluata glede na svoje potrebe.

Če boste komplet uporabljali v povezavi z zaključnim postopkom s kompletom znamke QIAGEN, preberite navodila v priročniku za zadevni komplet.

Posodobljene informacije o licenciranju in zavrnitve odgovornosti za izdelek so na voljo v priročniku ali navodilih za uporabo zadevnega kompleta znamke QIAGEN®. Priročniki in navodila za uporabo kompletov znamke QIAGEN so na voljo na spletni strani [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), lahko pa jih tudi naročite pri Oddelku za tehnične storitve družbe QIAGEN ali lokalnem distributerju.

Blagovne znamke: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QuantiTect®, Pyrosequencing®, Rotor-Gene®, *therascreen*® (QIAGEN Group); SYBR® (Thermo Fisher Scientific Inc).

---

Naročila [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Tehnična podpora [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Spletna stran [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)