




Veikimo charakteristikos

„QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue“ rinkinys, 1 versija **REF** 60404

Versijų valdymas

Šis dokumentas yra „„QIAamp DSP DNA FFPE Tissue“ rinkinio veikimo charakteristikos“, 1 versija, R3.

  	Prieš atlikdami tyrimus, www.qiagen.com/HB-0414 patikrinkite, ar nėra naujų peržiūrėtų ir pataisytų versijų. Dabartinę peržiūrėto ir pataisyto leidimo versiją nurodo leidimo data (formatas: mėnuo/metai).
---	---

Tolesni tyrimai

Genominė DNR po eliuavimo yra paruošta kitiems tyrimams, įskaitant įvairius in vitro diagnostikos tyrimus. Norėdami gauti daugiau informacijos apie konkrečias sistemos veikimo charakteristikas, žr. QIAGEN rinkinio vadovą.

Išgrynintos DNR išeiga

Formaline fiksuoti ir parafine įlieti (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE) mėginiai gali pasižymėti dideliu audinio heterogeniškumu. Be to, FFPE mėginių audinio paviršiaus plotas yra labai skirtingas, todėl skiriasi gautos DNR kokybė. Taigi laboratorijoje atlikdamas bet kurią procedūrą su mėginiu naudotojas turi parinkti optimalų pjūvių skaičių, pjūvio storį ir pjūvio paviršiaus plotą.

Jei rinkinį naudojate kartu su QIAGEN tyrimais, nurodymus žr. atitinkamame vadove.

Nepakankama audinio dehidratacija FFPE audinio ruošimo metu, kartu su mėginiu į mėgintuvėlį įdėtas per didelis parafino kiekis, naudojamas mažiau nei rekomenduojama grynas etanolis (ne molekulinės biologijos klasės) arba mėginyje esantis ksilenas arba etanolis gali lemti neoptimalų išskyrimą ir mažesnį DNR kiekį.

Pakartojamumas

Pakartojamumas buvo įvertintas naudojant šešias FFPE linijas, gautas iš formaline fiksuotų ir parafine įlietų žmogaus ląstelių. Gaminiai buvo ištirti naudojant „QuantiTect® SYBR® Green“ pagrindinį mišinį bei β-aktino specifinius genų pradmenis kartu su „Rotor-Gene® Q“ tikralaikės PGR cikleriu. Įvykdytos žmogaus β-aktino geno 174 bp fragmento ir 218 bp fragmento PGR reakcijos.

Atliekant statistinę analizę, kiekvienam fragmento dydžiui naudoti 72 duomenų taškai. Statistinės analizės metu apskaičiuotas standartinis nuokrypis (SN) ir viršutinė bei apatinė 95% pasikliautiną intervalo ribos. Atliekant variacijos komponentų analizę, variacija buvo apskaičiuota kaip 218 bp fragmento standartinis nuokrypis (SN: 0,342 C_T; apatinė 95% pasikliautiną intervalo riba: 0,291; viršutinė 95% pasikliautiną intervalo riba: 0,413). Šiuos duomenis galima naudoti įvertinti išskyrimo procedūros pakartojamumui. Apskaičiuota 174 bp fragmento variacija buvo 0,258 C_T; apatinė 95% pasikliautiną intervalo riba: 0,220; viršutinė 95% pasikliautiną intervalo riba: 0,312.

Atkuriamumas

Atkuriamumas buvo įvertintas trijose laboratorijose naudojant tris klinikinius FFPE mėginius su nesmulkių ląstelių plaučių vėžio (NSLPV) naviko audiniu: vienas iš jų pasižymėjo delecijos 6223 mutacija, vienas pasižymėjo L858R mutacija, o vienas iš jų buvo laukinio tipo mėginys. Klinikiniai FFPE mėginiai buvo parinkti atsižvelgiant į Sanger sekvenavimo būdu nustatytą mutacijos būseną.

Kiekvienam iš mutavusių klinikinių FFPE mėginių atsitiktinai poromis buvo parinkti išgauti naudojami 48 nuoseklūs FFPE pjūviai, kurie buvo suskirstyti į tris partijas, t. y. po vieną partiją tyrimo vietai.

Kiekvienoje vietoje išgavimas buvo atliekamas dubliuojant. Kiekvienoje vietoje išgaunant buvo naudojama unikali „QIAamp FFPE DNA DSP“ rinkinių partija. Visose trijose vietose mėginio vertinimas ir mutacijos vertinimas buvo atliekamas naudojant „*therascreen* EGFR RGQ PCR“ rinkinį. Mėginių tyrimai buvo atliekami tris ne viena po kitos einančias dienas ir buvo atlikti per šešias dienas. Kiekvienas mėginys kiekvienoje vietoje buvo tirtas šešis kartus, tokiu būdu gaunant 18 duomenų taškų mėginiui.

Visiems mėginiams visose trijose vietose mutacija nustatyta 100% tikslumu.

Tiesiškumas

„QIAamp DSP DNA FFPE Tissue“ rinkinys gali būti naudojamas iš skirtingų tipų audinių gautai DNR izoliuoti. Tiesinis intervalas nustatomas pagal kliento reikalavimus ir patvirtinamas atsižvelgiant į paskirtį. Skirtingiems audinių tipams, atsižvelgiant į sistemoje naudojamą audinį ir audinio savybes, galimi skirtingi tiesiniai intervalai.

Trukdančios medžiagos

„QIAamp DSP DNA FFPE Tissue“ rinkinys gali būti naudojamas iš skirtingų tipų audinių gautai DNR izoliuoti. Trukdančios medžiagos gali atsirasti iš skirtingų šaltinių, pvz., tai gali būti natūralūs audinio tipai ir organai būdingi metabolitai, patloginėmis sąlygomis susidarę metabolitai, paciento gydymo metu vartotos medžiagos arba paciento nurytos medžiagos. Atsižvelgiant į trukdančių medžiagų sudėtingumą ir skirtingą konkrečių tyrimų jautrumą, mes rekomenduojame naudotojams patiems įvertinti trukdančių medžiagų poveikį sistemoms ir patvirtinti tinkamą konkrečioms diagnostikos tyrimams trukdžių kontrolės būdą.

Informacijos apie trukdančias medžiagas atliekant konkrečius QIAGEN tyrimus žr. rinkinių vadovuose.

Kryžminė tarša

Norint įvertinti kryžminės taršos lygį buvo naudojami du FFPE ląstelių linijos NSLPV mėginiai: laukinio tipo ir FFPE ląstelių linija su 21 egzono L858R mutacija. Tyrimo metu buvo bandoma sukurti situaciją, kai išgavimo procedūros metu pasižymintis aukštu mutacijos lygiu mėginiai gali užteršti kitus mėginius. Procedūros metu naudojant vieną reagentų partiją atliktas L858R mutavusių mėginių, esančių šalia laukinio tipo mėginių, DNR gryninimas. Kryžminė tarša įvertinta naudojant „*therascreer*[®] EGFR RGQ PCR“ rinkinį. Rezultatai visoje sistemoje neparodė jokios kryžminės taršos.

„QIAamp DSP DNA FFPE DNA“ eliuato veikimo charakteristikos naudojant „Pyrosequencing[®]“

Tyrimams naudojant „*therascreen* EGFR Pyro“ tyrimą, iš FFPE audinio izoliuota DNR buvo atskiesta, kad DNR koncentracija būtų 2 ng/μl. Visų veikimo charakteristikoms įvertinti procedūrų metu visiems kodonams signalas buvo stipresnis nei 30 RLU (santykinų šviesos vienetų) bei gautas tinkamas mutacijų tyrimo medicininis rezultatas.

Eliuato stabilumas

Eliuato stabilumas priklauso nuo kartu gryninamų priemaišų (priklauso nuo audinio tipo) turinio ir tipo, eliuato tūrio ir laikymo sąlygų. Naudotojams rekomenduojame įvertinti eliuato stabilumą atsižvelgiant į konkrečius reikalavimus.

Jei rinkinį naudojate kartu su QIAGEN tyrimais, nurodymus žr. atitinkamame rinkinio vadove.

Naujausios informacijos apie licencijavimą ir produktų naudojimo sąlygų ribojimą pateikti atitinkamame QIAGEN® rinkinio vadove arba naudotojo vadove. QIAGEN rinkinio vadovai ir naudotojo vadovai pasiekiami adresu www.qiagen.com arba jų galite paprašyti QIAGEN techninės pagalbos tarnybos ar vietinio platintojo.

Prekių ženklai: „QIAGEN®“, „Sample to Insight®“, „QIAamp®“, „QuantiTect®“, „Pyrosequencing®“, „Rotor-Gene®“, „therascreer®“ (QIAGEN Group); „SYBR®“ (Thermo Fisher Scientific Inc).

© 2017 QIAGEN. Visos teisės saugomos. 02/2017 HB-0414-D01

Užsakymas www.qiagen.com/contact | Techninė pagalba support.qiagen.com | Svetainė www.qiagen.com