

Februari 2023

Gebruiksaanwijzing (handleiding) QIAamp[®] DSP DNA FFPE Tissue Kit



Versie 2



Voor in-vitrodiagnostisch gebruik

Voor gebruik in combinatie met QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit



Catalogusnummer



60404



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, DUITSLAND



1130780NL

Inhoud

| | |
|--|----|
| Beoogd gebruik..... | 4 |
| Beoogde gebruiker | 4 |
| Beschrijving en principe | 5 |
| Samenvatting en uitleg | 5 |
| Uitgangspunt van de procedure | 5 |
| Meegeleverde materialen | 7 |
| Inhoud van de kit | 7 |
| Bestanddelen van de kit | 8 |
| Benodigde, maar niet-meegeleverde materialen | 9 |
| Aanvullende reagentia | 9 |
| Verbruiksartikelen | 9 |
| Uitrusting..... | 9 |
| Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen | 10 |
| Veiligheidsinformatie | 10 |
| Informatie voor noodgevallen..... | 11 |
| Voorzorgsmaatregelen | 11 |
| Afvoer..... | 12 |
| Opslag en hantering van reagentia | 13 |
| Stabiliteit tijdens gebruik | 13 |
| Bewaren en hanteren van specimen | 14 |
| Procedure | 15 |
| Protocol: isolatie van genomisch DNA uit FFPE-weefselcoupes..... | 21 |

| | |
|---------------------------------------|----|
| Kwaliteitscontrole..... | 25 |
| Beperkingen..... | 26 |
| Prestatiekenmerken | 27 |
| Gids voor problemen oplossen | 28 |
| Symbolen | 30 |
| Bijlage: Verwerken | 33 |
| Bestelgegevens..... | 34 |
| Revisiegeschiedenis van document..... | 35 |

Beoogd gebruik

De QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit is een systeem voor isolatie en zuivering van genomisch DNA uit in formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde (Formalin-Fixed Paraffin-Embedded; FFPE) biologische monsters, met behulp van silicamembraan-technologie (QIAamp-technologie).

Het is bedoeld voor handmatige monsterbereiding en geeft geen kwalitatieve of kwantitatieve testresultaten.

Beoogde gebruiker

Het product is bedoeld voor toepassing door beroepsmatige gebruikers, bijvoorbeeld analisten en artsen die zijn opgeleid in moleculair-biologische technieken voor in-vitrodiagnostische (IVD) doeleinden.

Beschrijving en principe

Samenvatting en uitleg

De QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit wordt gebruikt voor het zuiveren van DNA uit FFPE-weefselcoupes. Daarbij wordt gebruikgemaakt van de veelgebruikte QIAamp DNA microtechnologie voor zuivering van genomisch en mitochondriaal DNA uit monsters met een klein volume of kleine afmeting. In de kit wordt gebruikgemaakt van de selectieve bindingseigenschappen van een op silica gebaseerd membraan in combinatie met flexibele elutievolume's.

Dankzij de omstandigheden tijdens de lyse kan het genomisch DNA efficiënt uit FFPE-weefselcoupes worden gezuiverd zonder dat ze overnacht worden geïncubeerd. Door incubatie bij een hogere temperatuur na digestie door proteïnase K wordt de crosslinking van het vrijgekomen DNA door formaline gedeeltelijk verbroken, wat zowel de opbrengst als de kwaliteit van het DNA voor vervolggassays ten goede kan komen. Let op: DNA uit FFPE-monsters heeft doorgaans een lager molecuulgewicht dan DNA uit verse of ingevroren monsters. De mate van fragmentatie is afhankelijk van het type monster, hoe oud het monster is en de gebruikte fixatie-omstandigheden.

Na lyse kunnen er met de eenvoudige procedure meerdere monsters tegelijk met de QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit worden verwerkt.

Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de systeemprestaties te valideren voor alle procedures die in het laboratorium worden gebruikt en niet worden beschreven in de prestatieonderzoeken van QIAGEN® in de handleiding.

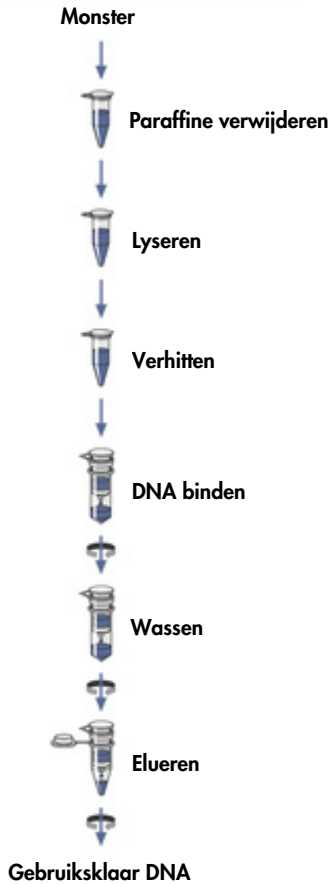
Uitgangspunt van de procedure

De procedure die wordt gehanteerd in de QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit bestaat uit zes stappen (Afbeelding 1):

- Verwijderen van paraffine: de paraffine wordt opgelost in xyleen en verwijderd.
- Lyse: het monster wordt bij 56 °C onder denaturerende omstandigheden, in aanwezigheid van proteïnase K, gelyseerd.

- Verhitten: door incubatie bij 90 °C wordt crosslinking door formaline ongedaan gemaakt.
- Binden: DNA bindt aan het membraan en verontreinigende stoffen stromen erdoorheen.
- Wassen: achtergebleven verontreinigingen worden weggespoeld.
- Elueren: zuiver, geconcentreerd DNA wordt van het membraan geëluëerd.







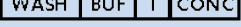
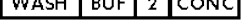
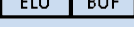


QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-procedure



Afbeelding 1. QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit-procedure.

Meegeleverde materialen

Inhoud van de kit

| QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit | | | (50) |
|---------------------------------------|---|---|--------------|
| Catalogusnr. | | | 60404 |
| Aantal preparaten | | | 50 |
| | Identiteit | Symbolen | Aantal |
| QIAamp MinElute® | QIAamp MinElute Columns with Wash Tubes (QIAamp MinElute kolommen met wasbuisjes) |  | 50 |
| WT | Wash Tubes (Wasbuisjes) (2 ml) |  | 3 x 50 |
| ET | Elution Tubes (Elutiebusjes) (1,5 ml) |  | 50 |
| LT | Lysis Tubes (Lysebusjes) (2 ml) |  | 50 |
| ATL | Tissue Lysis Buffer (Buffer voor weefselyse) |  | 10 ml |
| AL | Lysis Buffer (Lysebuffer)* |  | 12 ml |
| AW1 | Wash Buffer 1 (Wasbuffer 1) (concentraat)* |  | 19 ml |
| AW2 | Wash Buffer 2 (Wasbuffer 2) (concentraat)† |  | 13 ml |
| ATE | Elution Buffer (Elutiebuffer)† |  | 12 ml |
| PK | Proteinase K (Proteinase K) |  | 1,25 ml |
| - | Gebruiksaanwijzing (Handleiding) |  | 1 |

* Bevat een guanidinezout. Niet geschikt voor gebruik met bleekhoudende desinfectiemiddelen. Zie pagina 10 voor Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen.

† Bevat natriumazide als conserveermiddel.

Bestanddelen van de kit

De belangrijkste componenten van de kit worden hieronder besproken.

Tabel 1. Actieve bestanddelen in meegeleverde reagentia

| Reagens | | Actieve bestanddelen | Concentratie (w/w) [%] |
|---------|-----------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| Symbol | Naam | | |
| ATL | Buffer ATL | Natriumdodecylsulfaat | ≥ 1 tot < 10 |
| AL | Buffer AL | Guanidinehydrochloride Maleïnezuur | > 30 tot < 50 ≥ 0,1 tot < 1 |
| AW1 | Buffer AW1 | Guanidinehydrochloride Ethanol | ≥ 50 tot < 70 ≥ 10 tot < 90 |
| AW2 | Buffer AW2 | Ethanol | ≥ 10 tot < 90 |
| ATE | Buffer ATE | Geen | - |
| PK | Proteinase K (Proteïnase K) | Proteïnase K | ≥ 1 tot < 10 |

Om het risico van een negatieve invloed op gegenereerde diagnostische resultaten na DNA-isolatie zo klein mogelijk te houden, moeten de juiste controles worden gebruikt voor vervolgtoeepassingen.

Benodigde, maar niet-meegeleverde materialen

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB's) die bij de leveranciers van de producten verkrijgbaar zijn.

Aanvullende reagentia

- Xyleen
- Ethanol (96–100%)*

Verbruiksartikelen

- Als men besluit andere buisjes te gebruiken dan de buisjes in de kit, raden wij microcentrifugebuisjes van 1,5 of 2 ml (voor lysestappen) en microcentrifugebuisjes van 1,5 ml aan (voor elutiestappen) (bv. beschikbaar van Sarstedt®, cat.nr. 72.690). Wij raden aan DNase/RNase-vrije conische buisjes te gebruiken met dopjes die goed dicht kunnen. Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de systeemprestaties te valideren voor alle procedures die in het laboratorium worden uitgevoerd en die niet in de prestatieonderzoeken van QIAGEN worden behandeld.
- Pipetten en pipetpuntjes (om kruisbesmetting te voorkomen raden wij dringend aan gebruik te maken van pipetpuntjes met aerosolfilter)

Uitrusting†

- Thermomixer‡, schudapparaat met verwarming, verwarmblok , of waterbad met mogelijkheden voor incubatie bij 56 °C, 70 °C, en 90 °C
- Microcentrifuge† met rotor voor buisjes van 2 ml
- Vortex

* Gebruik geen gedenatureerde alcohol, aangezien daarin andere stoffen aanwezig zijn zoals methanol of methylethylketon.

† Verzeker u er voor gebruik van dat de apparaten zijn gecontroleerd en gekalibreerd volgens de aanbevelingen van de fabrikant.

‡ Om te zorgen voor een goede verwerking van monsters tijdens de procedures met de QIAamp DSP DNA FFPE raden wij ten zeerste aan alle instrumenten te kalibreren volgens de aanbevelingen van de fabrikanten.

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Op basis van het risicobeheer van QIAGEN zijn alle maatregelen voor risicobeheer geïmplementeerd in het productontwerp. Het algehele restrisico wordt als aanvaardbaar beschouwd en het gebruik van het hulpmiddel wordt als veilig beschouwd. Deze handleiding bevat instructies, waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen voor de veiligheid en prestaties van het apparaat. Deze moeten nauwkeurig worden opgevolgd.

Onthoud dat u volgens de plaatselijke voorschriften verplicht kunt zijn om ernstige incidenten die hebben plaatsgevonden in verband met gebruik van het hulpmiddel te melden bij de fabrikant en/of diens geautoriseerde vertegenwoordiger en de regelgevende instantie van de locatie waar de gebruiker en/of de patiënt zich bevindt.

Veiligheidsinformatie

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB's). Deze zijn online beschikbaar in handig en compact pdf-formaat op www.qiagen.com/safety, waar u de veiligheidsinformatiebladen voor elke QIAGEN-kit en kitcomponent kunt vinden, bekijken en afdrucken.

VOORZICHTIG Voeg GEEN bleekmiddel of zuuroplossingen rechtstreeks toe aan het afval van monsterbereiding.



- Buffer AL en Buffer AW1 bevatten guanidinehydrochloride, dat met bleekwater sterk reactieve verbindingen kan vormen.
- Reinig eventueel gemorste vloeistof die deze buffers bevat met een geschikt laboratoriumreinigingsmiddel en water. Als de gemorste vloeistof potentieel infectieuze agentia bevat, reinig de verontreinigde plaats dan eerst met laboratoriumreinigingsmiddel en water, en daarna met 1% (v/v) natriumhypochloriet.

- Specimens en monsters kunnen besmettelijk zijn. Gooi afval van het monster en de assay weg conform uw lokale veiligheidsprocedures.

Informatie voor noodgevallen

CHEMTREC

VS en Canada 1-800-424-9300

Buiten de VS en Canada +1 703-527-3887

Voorzorgsmaatregelen

Buffer AL



Bevat: guanidinehydrochloride en maleïnezuur. Waarschuwing! Kan schadelijk zijn bij inslikken en bij inademing. Veroorzaakt huidirritatie. Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Kan een allergische huidreactie veroorzaken. Bij aanhoudende oogirritatie: Een arts raadplegen. BIJ CONTACT MET DE OGEN: Voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten. Contactlenzen verwijderen, indien mogelijk. Blijven spoelen. Trek verontreinigde kleding uit en was deze voordat u de kleding opnieuw gebruikt. BIJ CONTACT MET DE HUID: Met veel water en zeep wassen. Bij huidirritatie: een arts raadplegen. Draag beschermende handschoenen/ beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming.

Buffer ATL



Waarschuwing! Licht irriterend voor de huid. Bij huidirritatie: een arts raadplegen.

Buffer AW1



Bevat: guanidinehydrochloride. Waarschuwing! Schadelijk bij inslikken en bij inademing. Veroorzaakt huidirritatie. Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Neem onmiddellijk contact op met een GIFCENTRUM of een arts wanneer u zich onwel voelt. Voer de inhoud/verpakking af naar een goedgekeurde stortlocatie. Trek verontreinigde kleding uit en was deze voordat u de kleding opnieuw gebruikt. Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming.

Proteinase K



Bevat: proteinase K. Gevaarlijk! Licht irriterend voor de huid. Kan bij inademing allergie- of astmasymptomen of ademhalingsmoeilijkheden veroorzaken. Vermijd het inademen van stof/rook/gas/damp/nevel/spray. Voer de inhoud/verpakking af naar een goedgekeurde stortlocatie. Bij respiratoire symptomen: Een arts of GIFCENTRUM raadplegen. NA INADEMING: Bij ademhalingsproblemen het slachtoffer in de frisse lucht brengen en laten rusten in een houding die het ademen vergemakkelijkt. Adembescherming dragen.

Afvoer

Het afval bevat monsters en reagentia. Dit afval kan giftig of infectieus materiaal bevatten en moet correcte wijze worden verwijderd. Raadpleeg uw lokale veiligheidsvoorschriften voor de juiste verwijderingsprocedures.

Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB's). Deze zijn online beschikbaar in pdf-formaat via www.qiagen.com/safety. Hier vindt u de VIB's van alle kits en kit-componenten van QIAGEN, die u kunt bekijken en afdrukken.

Opslag en hantering van reagentia

De QIAamp MinElute-kolommen dienen na aankomst bij 2-8 °C te worden bewaard en kunnen gebruikt worden tot de uiterste gebruiksdatum die op de kitdoos is vermeld.

Alle buffers kunnen worden bewaard bij kamertemperatuur (15-25 °C) en zijn stabiel tot de uiterste gebruiksdatum van de kit, indien ongeopend.

Stabiliteit tijdens gebruik

Buffers AW1 en AW2 kunnen na reconstitutie worden bewaard bij kamertemperatuur (15-25 °C) gedurende maximaal 1 jaar of tot de uiterste gebruiksdatum van de kit, als die eerder valt.

Bewaren en hanteren van specimen

De QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit is ontwikkeld voor gebruik met FFPE-monsters.

De DNA-stabiliteit is afhankelijk van verschillende factoren, zoals monsterafname, verwerking, voorbereiding en opslagomstandigheden, die van invloed kunnen zijn op het gebruik ervan tijdens de latere toepassing. Het is belangrijk om de gebruiksaanwijzing voor de specifieke latere toepassing te raadplegen en/of de gehele workflow te verifiëren en valideren om de juiste opslagomstandigheden te bepalen.

Voor algemene informatie over de monsterafname, verwerking, voorbereiding en opslagomstandigheden van FFPE-monsters, raden we aan om de volgende norm te hanteren: ISO 20166-3:2018 'Moleculaire in-vitrodiagnostische onderzoeken — Specificaties voor processen voorafgaand aan het onderzoek voor in formaline gefixeerd en in paraffine ingebed (FFPE) weefsel — Deel 3: Geïsoleerd DNA', en de goedgekeurde CLSI-richtlijn: MM13-A 'Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods' (Afname, transport, bereiding en opslag van specimen voor moleculaire methoden).

Het DNA wordt geëluëerd in Buffer ATE en kan onmiddellijk worden gebruikt in amplificatiereacties of worden opgeslagen (omstandigheden afhankelijk van de behoeften van de gebruiker). Raadpleeg de relevante handleidingen van de betreffende kits voor aanbevolen omstandigheden voor het bewaren van monsters voor specifieke vervolganalyses met QIAGEN-kits.

Procedure

Wat u moet weten voordat u begint

- Alle reagentia die geleverd worden in de QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit zijn uitsluitend bedoeld voor gebruik met de andere reagentia in dezelfde QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit. Voor optimale prestaties van de kit dienen de reagentia in de kit niet door andere reagentia te worden vervangen.
- Controleer na ontvangst van de kit of de onderdelen van de kit niet zijn beschadigd. Neem in geval van beschadiging van de verpakkingen of de flesjes met buffer contact op met de technische diensten van QIAGEN of met uw plaatselijke distributeur. Raadpleeg in geval van gemorste vloeistof “Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen”, op pagina 10. Gebruik geen onderdelen van de kit die zijn beschadigd, omdat dit kan leiden tot een verminderde werking van de kit.
- Gebruik geen onderdelen uit andere kits met de kit die u op dit moment gebruikt, tenzij de partijnummers identiek zijn.
- Voorkom microbiële besmetting van de reagentia uit de kit.
- Deze kit mag alleen gebruikt worden door mensen die getraind zijn in laboratoriumwerkwijzen voor in-vitrodiagnostiek.
- Draag altijd latex of vinyl handschoenen bij het hanteren van reagentia en monsters om contaminatie vanaf de huid of door stof van laboratoriumapparatuur te voorkomen. Op de handen en op stofdeeltjes kunnen bacteriën en schimmels aanwezig zijn; dit zijn veelvoorkomende bronnen van besmetting. Trek regelmatig schone handschoenen aan en houd alle buisjes gesloten.
- Gooi ongebruikte buffers, vloeibaar afval en resten van monsters weg volgens de plaatselijk geldende werkwijze.
- Bij gebruik van eigen reageerbuisjes wordt het gebruik van DNase/RNase-vrije conische polypropyleen buisjes van 1,5–2 ml voor eenmalig gebruik met een lage bindingsaffiniteit, met dopjes die goed dicht kunnen, aangeraden voor alle stappen tijdens de zuivering.

- Voer alle centrifugatiestappen uit bij kamertemperatuur (15–25 °C).
- Bewaar alle buffers bij kamertemperatuur (15–25 °C) en meng ze grondig voor gebruik.
- Stel een thermomixer of schudapparaat met verwarming in op 56 °C voor gebruik in stap 9. Als er geen thermomixer of schudapparaat met verwarming beschikbaar is, kan in plaats daarvan een verwarmblok of waterbad worden gebruikt.
- Los eventueel precipitaat in Buffer AL of Buffer ATL op door de buffer onder voorzichtig schudden te verwarmen op 70 °C.
- Zorg dat Buffer AW1 en Buffer AW2 zijn voorbereid volgens de instructies hieronder.
- Tijdens de procedures voor kwaliteitscontrole van QIAGEN worden op iedere afzonderlijke kitpartij functionele testen uitgevoerd. Meng daarom geen reagentia uit kits uit verschillende partijen, en voeg geen reagentia uit verschillende partijen samen.

Vorbereitung van buffers

Vorbereitung van Buffer ATL

- Controleer vooraf of er zich in Buffer ATL geen precipitaat heeft gevormd. Los eventueel precipitaat op door de buffer onder voorzichtig schudden te verwarmen tot 70 °C.

Vorbereitung van Buffer AL

- Controleer vooraf of er zich in Buffer AL geen precipitaat heeft gevormd. Los eventueel precipitaat op door de buffer onder voorzichtig schudden te verwarmen tot 70 °C.

Vorbereiding van Buffer AW1

- Voeg 25 ml ethanol (96-100%)* toe aan het flesje met 19 ml geconcentreerde Buffer AW1. Vink het vakje op het etiket van het flesje aan, om aan te geven dat de ethanol is toegevoegd. Buffer AW1 kan na reconstitutie worden bewaard bij kamertemperatuur (15–25 °C) gedurende maximaal 1 jaar of tot de uiterste gebruiksdatum van de kit, als die eerder valt. Wij raden aan om op het etiket van de buffer te schrijven op welke datum de buffer is gereconstitueerd.

Opmerking: Schud de gereconstitueerde Buffer AW1 voor het begin van de procedure om hem te mengen.

Vorbereiding van Buffer AW2

- Voeg 30 ml ethanol (96-100%) toe aan het flesje met 13 ml geconcentreerde Buffer AW2. Vink het vakje op het etiket van het flesje aan, om aan te geven dat de ethanol is toegevoegd. Buffer AW2 kan na reconstitutie worden bewaard bij kamertemperatuur (15–25 °C) gedurende maximaal 1 jaar of tot de uiterste gebruiksdatum van de kit, als die eerder valt. Wij raden aan om op het etiket van de buffer te schrijven op welke datum de buffer is gereconstitueerd.

Opmerking: Schud de gereconstitueerde Buffer AW2 voor het begin van de procedure om hem te mengen.

Uitgangsmateriaal

Het uitgangsmateriaal voor de zuivering van het DNA bestaat uit coupes van in formaline gefixeerd, in paraffine ingebed weefsel (liefst vers gesneden). Er kunnen meerdere coupes tegelijkertijd worden verwerkt. Als er geen informatie beschikbaar is over de aard van het uitgangsmateriaal, is het aan te raden te beginnen met niet meer dan 3 coupes tegelijk.

* Gebruik geen gedestilleerde alcohol, aangezien daarin andere stoffen aanwezig zijn zoals methanol of methylethylketon.

Het is aan de gebruiker om het aantal coupes, de dikte van coupes en het oppervlaktegebied van coupes te optimaliseren voor alle eventuele procedures die in hun laboratorium worden gebruikt. Als de kit wordt gebruikt in combinatie met een kit of ander hulpmiddel van QIAGEN voor verdere verwerking of analyse, raadpleeg dan de instructies in de betreffende handleiding.

Handelswijze om kruisbesmetting te voorkomen

Technieken waarin gebruik wordt gemaakt van nucleïnezuuramplificatie zijn erg gevoelig; bij gebruik van de QIAamp MinElute-kolommen zijn daarom de volgende voorzorgsmaatregelen noodzakelijk om kruisbesmetting tussen verschillende monsters te voorkomen:

- Zorg dat de buisjes niet te vol zitten met weefsel.
- Gebruik bij het afschrapen van het weefsel bij ieder monster een nieuw scalpel.
- Ga zorgvuldig te werk bij het aanbrengen van het monster of de oplossing op de QIAamp MinElute-kolom. Pipetteer het monster in de QIAamp MinElute-kolom zonder de rand van de kolom te bevochtigen.
- Gebruik iedere keer na het overbrengen van vloeistof een nieuwe pipetpunt. Wij adviseren om gebruik te maken van pipettips met aerosolfilter.
- Gebruik voor de wasstappen van de monsters steeds een nieuw wasbuisje.
- Zorg dat de dopjes helemaal gesloten zijn alvorens de buisjes te vortexen of te centrifugeren.
- Zorg dat een QIAamp MinElute-kolom helemaal gesloten is alvorens hem te centrifugeren.
- Centrifugeer de microcentrifugebuisjes kort na elke puls-vortexingstap en na iedere incubatie bij 90 °C om eventuele druppeltjes aan de onderkant van de dop te verwijderen.
- Open niet meer dan 1 QIAamp MinElute-kolom tegelijk en zorg dat er geen aerosolen kunnen worden gevormd.
- Gebruik voor ieder monster een nieuw scalpel.
- Gebruik iedere keer na het overbrengen van vloeistof een nieuwe pipetpunt. Om kruisbesmetting zo veel mogelijk te voorkomen, raden wij aan gebruik te maken van pipettips met aerosolfilter en geen multistep-pipet te gebruiken.
- Draag altijd wegwerphandschoenen en controleer regelmatig of deze mogelijk besmet zijn met materiaal uit een monster. Gooi de handschoenen weg als u denkt dat ze misschien besmet geraakt kunnen zijn.
- Open niet meer dan 1 buisje tegelijk.

Centrifugatie

De QIAamp MinElute-kolommen passen in de meeste standaard microcentrifugebuisjes van 1,5–2 ml. Centrifugatie van QIAamp MinElute-kolommen gebeurt bij ongeveer 6000 x g om geluidshinder door de centrifuge te beperken. Centrifugatie bij maximale snelheid leidt niet tot een hogere DNA-opbrengst. Er zijn 2 stappen waarbij centrifugatie van de QIAamp MinElute-kolommen bij de maximale snelheid wel nodig is: de centrifugatiestap voor het drogen van de kolommen na het wassen van de membranen, en de elutiestap. Ook moeten de monsters bij de maximale snelheid worden gecentrifugeerd na de xyleenbehandeling en na de wasstap met ethanol.

Alle centrifugatiestappen moeten plaatsvinden bij kamertemperatuur (15–25 °C). Centrifugatie bij lage temperaturen kan leiden tot onvolledige extractie.

QIAamp MinElute-kolommen verwerken in een microcentrifuge

- Doe altijd de dop op een QIAamp MinElute-kolom alvorens deze in de microcentrifuge te plaatsen.
- Raak het membraan van de QIAamp MinElute-kolom niet aan met de pipetpunt.
- Fracties die niet aan het membraan binden, kunnen gevaarlijk afval bevatten en dienen op de juiste wijze te worden afgevoerd.
- Om meerdere monsters tegelijkertijd efficiënt te kunnen verwerken, raden wij aan in een rek de benodigde wasbuisjes klaar te zetten zodat de QIAamp MinElute-kolommen na centrifugatie in de buisjes kunnen worden overgebracht. Gebruikte wasbuisjes met niet-gebonden vloeistof kunnen worden weggegooid, en de nieuwe wasbuisjes met de QIAamp MinElute-kolommen kunnen meteen in de microcentrifuge worden geplaatst.
- Zorg dat elk monster gedurende het gehele proces traceerbaar blijft.

Elutie van gezuiverd DNA

Voor verdere toepassingen waarvoor een klein uitgangsvolume nodig is (bijvoorbeeld sommige PCR-assays) kan een hogere concentratie in het eluaat weliswaar de gevoeligheid van het assay verhogen, maar kunnen ook potentiële remmers van de reactie in hogere concentraties aanwezig zijn.

Een groter elutievolume geeft een lagere concentratie van het DNA in het eluaat.

Het volume van het eluaat dat wordt verkregen, kan ongeveer 5 µl minder zijn dan het volume aan Buffer ATE dat op de QIAamp MinElute-kolom is aangebracht. Een elutievolume van 20 µl resulteert bijvoorbeeld in een eluaat van ≥ 15 µl. Het volume aan eluaat dat wordt verkregen, is afhankelijk van de aard van het monster.

De gebruiker is zelf verantwoordelijk voor optimalisatie van het elutievolume voor alle procedures die in het laboratorium worden gebruikt. Raadpleeg de handleidingen van de betreffende kits voor aanbevolen elutievolumes voor specifieke vervolganalyses met QIAGEN-kits.

Incubatie van de kolom met Buffer ATE bij kamertemperatuur gedurende bijvoorbeeld 5 minuten voorafgaand aan het centrifugeren kan de opbrengst verhogen. Het geëluëerde DNA kan worden opgevangen in de meegeleverde elutiebuiscsjes van 1,5 ml. Opslagomstandigheden voor het geëluëerde DNA zijn afhankelijk van de door de gebruiker bepaalde vereisten. Raadpleeg de handleidingen van de betreffende kits voor aanbevolen opslagomstandigheden voor specifieke vervolganalyses met QIAGEN-kits.

Protocol: isolatie van genomisch DNA uit FFPE-weefselcoupes

Procedure

1. Snijd met een scalpel eventuele overmaat aan paraffine van het monsterblok.
2. Snijd coupes volgens de gebruikelijke werkwijze in het laboratorium (zie "Uitgangsmateriaal", pagina 17). Het is aan de gebruiker om het aantal coupes, de dikte van coupes en het oppervlaktegebied van coupes te optimaliseren voor alle eventuele procedures die in hun laboratorium worden gebruikt. Zorg dat de monsters gedurende de gehele procedure traceerbaar blijven.
3. Schraap met een steriel scalpel onmiddellijk het weefsel van de coupes in een meegeleverd lysebuisje. Zorg ervoor dat al het beschikbare weefsel in het buisje wordt overgebracht. Voeg 1 ml xyleen aan het monster toe, sluit het dopje en vortex stevig tot de paraffine is opgelost (bv. 10 seconden). Zorg dat de dop goed dicht zit om morsen van xyleen, kruisbesmetting tussen verschillende monsters en mogelijk contact met xyleen te voorkomen.

Opmerking: Werk in een zuurkast of een ander geschikt inperkend systeem bij gebruik van xyleen.

4. Centrifugeer ongeveer 2 minuten bij kamertemperatuur op maximale snelheid om het pellet, bestaande uit het weefsel, te verkrijgen. Herhaal deze stap als er geen pellet wordt gevormd.

Opmerking: Centrifugatie bij lage temperaturen kan leiden tot onvolledige extractie.

5. Verwijder het supernatant door middel van pipetteren en gooi het weg. Behoud het pellet.

Het supernatant bevat xyleen. Xyleen geldt als gevaarlijk afval en moet op de juiste wijze worden afgevoerd, met inachtneming van de plaatselijke voorschriften.

6. Voeg 1 ml ethanol (96–100%) aan het pellet toe en vortex om goed te mengen.

De ethanol zorgt voor de extractie van achtergebleven xyleen uit het monster en dient op de juiste wijze te worden afgevoerd.

7. Centrifugeer ongeveer 2 minuten bij kamertemperatuur op maximale snelheid.

Pipetteer het supernatant voorzichtig af. Laat het gehele pellet zitten.

Verwijder voorzichtig met een dunne pipetpunt eventuele achtergebleven restjes ethanol. Incubeer het open buisje bij 15–40 °C, tot alle overgebleven ethanol is verdampt. Voor een succesvolle extractie is het essentieel dat er geen restjes ethanol meer aanwezig zijn.

Opmerking: Bij lagere incubatietemperaturen kan het langer duren tot alles verdampt is; bij hogere temperaturen kan het pellet uitdrogen, waardoor het moeilijk te resuspendieren kan zijn.

8. Resuspendeer het pellet in 180 µl Buffer ATL. Voeg 20 µl proteïnase K toe en vortex om te mengen.

Opmerking: Het pellet moet goed in de ATL-buffer geresuspendeerd zijn voor een zo hoog mogelijke opbrengst.

9. Incubeer gedurende ongeveer 1 uur bij 56 °C (of tot het monster volledig is gelyseerd).

10. Incubeer 1 uur bij 90 °C.

Door de incubatie bij 90 °C in Buffer ATL wordt de modificatie van nucleïne-zuren door formaldehyde gedeeltelijk ongedaan gemaakt. Kortere incubatietijden of incubatie bij lagere temperaturen kan van invloed zijn op de kwaliteit en de opbrengst van het DNA. Als er slechts 1 verwarmblok wordt gebruikt, zet het monster dan bij kamertemperatuur na de incubatie bij 56 °C tot het verwarmblok op 90 °C is gekomen.

11. Centrifugeer het buisje kort om eventuele druppeltjes aan de onderkant van de dop te verwijderen.

12. Voeg 200 µl Buffer AL aan het monster toe en vortex om goed te mengen. Voeg vervolgens 200 µl ethanol (96–100%) toe en vortex nogmaals om goed te mengen.

Het is essentieel dat het monster, Buffer AL en het ethanol onmiddellijk grondig worden gemengd door te vortexen of op-en-neer te pipetteren, om een homogene oplossing te verkrijgen. Buffer AL en het ethanol kunnen ook vooraf worden gemengd en samen in 1 stap worden toegevoegd om tijd te besparen bij de verwerking van meerdere monsters. Na toevoeging van Buffer AL en ethanol kan een wit precipitaat worden gevormd. Dit precipitaat heeft geen nadelig effect op de QIAamp-procedure. Werk altijd met een verse mix en gooi de mix na gebruik meteen weg.

13. Centrifugeer het buisje kort om eventuele druppeltjes aan de onderkant van de dop te verwijderen.
14. Breng het gehele lysaat voorzichtig over naar de QIAamp MinElute-kolom (in een wasbuisje 2 ml) zonder daarbij de rand te bevochtigen. Doe het dopje dicht en centrifugeer ≥ 1 minuut bij $6000 \times g$. Plaats de QIAamp MinElute-kolom in een schoon wasbuisje van 2 ml (meegeleverd) en gooi het wasbuisje met de niet-gebonden vloeistof weg.

Als niet al het lysaat na centrifugeren door het membraan is gelopen, centrifugeer dan nogmaals bij een hogere snelheid tot de QIAamp MinElute-kolom leeg is.

15. Open de QIAamp MinElute-kolom voorzichtig en voeg 500 μ l gereconstitueerde Buffer AW1 toe zonder de rand te bevochtigen. Doe het dopje dicht en centrifugeer gedurende ≥ 1 minuut bij $6000 \times g$. Plaats de QIAamp MinElute-kolom in een schoon wasbuisje van 2 ml en gooi het wasbuisje met de niet-gebonden vloeistof weg.
16. Open de QIAamp MinElute-kolom voorzichtig en voeg 500 μ l gereconstitueerde Buffer AW2 toe zonder de rand te bevochtigen. Doe het dopje dicht en centrifugeer ≥ 1 minuut bij $6000 \times g$. Plaats de QIAamp MinElute-kolom in een schoon wasbuisje van 2 ml en gooi het wasbuisje met de niet-gebonden vloeistof weg.

De niet-gebonden vloeistof mag niet in aanraking komen met de QIAamp MinElute-kolom. Zorg dat de rotor van de centrifuge goed in balans is. Bij sommige centrifuges kan tijdens het afremmen vibratie van de rotor optreden, waardoor de doorgelopen vloeistof, die ethanol bevat, in aanraking komt met de QIAamp MinElute-kolom. Ga zorgvuldig te werk als u de QIAamp MinElute-kolom en het wasbuisje uit de rotor haalt, zodat de niet-gebonden vloeistof niet in aanraking komt met de QIAamp MinElute-kolom.

17. Centrifugeer ongeveer 3 minuten op maximale snelheid (ongeveer $20.000 \times g$) om het membraan te drogen.
Carry-over van ethanol kan negatieve gevolgen hebben voor sommige verdere toepassingen.

18. Plaats de QIAamp MinElute-kolom in een schoon elutiebusje van 1,5 ml (meegeleverd) en gooi het wasbusje met de niet-gebonden vloeistof weg. Open het dopje van de QIAamp MinElute-kolom voorzichtig en breng 20–200 μ l Buffer ATE over naar het midden van het membraan.

Belangrijk: Breng bij kleine elutievolumes ($< 50 \mu$ l) de Buffer ATE op het midden van het membraan aan zodat al het gebonden DNA wordt geëluëerd. De QIAamp MinElute-kolommen bieden enige flexibiliteit wat betreft het elutievolume dat wordt gebruikt. Kies een volume dat het best past bij de vereisten van de verdere toepassing. Het volume van het eluaat zal ongeveer 5 μ l minder zijn dan het volume elutiebuffer dat op de kolom is aangebracht.

19. Sluit het dopje en incubeer de kolom gedurende 1 minuut bij kamertemperatuur (15-25 °C). Centrifugeer ≥ 1 minuut op maximale snelheid (ong. 20.000 $\times g$).

Incubatie van de QIAamp MinElute-kolom met Buffer ATE erop gedurende ongeveer 5 minuten bij kamertemperatuur voorafgaand aan het centrifugeren kan zorgen voor een hogere DNA-opbrengst.

Kwaliteitscontrole

Elke partij QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kits wordt, in overeenstemming met het ISO-gecertificeerde kwaliteitsbeheersysteem van QIAGEN, getest op vooraf vastgestelde specificaties, om een consistente kwaliteit van het product te waarborgen.

Beperkingen

De prestaties van de kit zijn vastgesteld met behulp van FFPE-weefsels voor de isolatie van genomisch DNA.

Te weinig en te veel fixatie kan de DNA-kwaliteit beïnvloeden, wat slechtere prestaties in vervolggassays oplevert.

Resterende formaline kan de digestiestap voor proteïnase K verstoren. Zorg ervoor dat de monsters grondig zijn gedehydrateerd voordat ze worden ingebed.

Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de systeemprestaties te valideren voor alle procedures die in het laboratorium worden gebruikt en niet worden gedekt door de prestatieonderzoeken van QIAGEN.

Om het risico van een negatieve invloed op de diagnostische resultaten zo klein mogelijk te houden, moeten de juiste controles worden gebruikt voor vervolgtoeepassingen. Voor verdere validering worden de richtlijnen van de 'International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH)' in: '*ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology*', aanbevolen.

Gegenereerde diagnostische resultaten moeten worden geïnterpreteerd in combinatie met overige klinische bevindingen of laboratoriumresultaten.

Het kan zijn dat er bij de zuivering van DNA met de QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit ook RNA wordt meegezuiverd, als dat in het monster aanwezig is.

Prestatiekenmerken

De toepasselijke prestatiekenmerken kunt u vinden onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op www.qiagen.com.

Gids voor problemen oplossen

Deze gids voor problemen oplossen kan helpen bij het oplossen van eventuele problemen. Raadpleeg ook de pagina Veelgestelde vragen (Frequently Asked Questions, FAQ) in ons centrum voor technische ondersteuning voor meer informatie: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. De wetenschappers van de technische diensten van QIAGEN beantwoorden graag al uw vragen over de informatie en/of protocollen in deze handleiding of over test- en assaytechnieken (kijk op www.qiagen.com voor contactgegevens).

Opmerkingen en suggesties

Verstopte QIAamp MinElute-kolom

- | | |
|-------------------------------------|--|
| a) Te veel uitgangsmateriaal | Verminder de hoeveelheid uitgangsmateriaal. Het is cruciaal om de juiste hoeveelheid uitgangsmateriaal te gebruiken (zie pagina 17). |
| b) Centrifugatietemperatuur te laag | De centrifugatietemperatuur moet 15-25 °C zijn. Sommige centrifuges kunnen worden afgekoeld tot lager dan 15 °C, zelfs wanneer ze zijn ingesteld op 20 °C. Hierdoor kunnen zich precipitaten vormen die de QIAamp MinElute-kolom verstopten. Indien dit gebeurt, stelt u de centrifugatietemperatuur in op 15-25 °C. |

Lage DNA-opbrengst

- | | |
|---|---|
| a) Te veel uitgangsmateriaal | Wanneer de QIAamp MinElute Spin Column overmatig gevuld wordt, neemt de nucleïnezuuropbrengst drastisch af. Verminder de hoeveelheid uitgangsmateriaal (zie pagina 17). |
| b) DNA blijft gebonden aan het membraan van RNeasy MinElute Spin Column | Herhaal de DNA-elutie, maar incubeer de QIAamp MinElute Spin Column op de tafel gedurende 10 minuten met ATE buffer (Elutiebuffer) voorafgaand aan het centrifugeren. |
| c) Verkeerde opslag van buffers/reagentia | De QIAamp MinElute Spin Columns moeten bij 2-8 °C worden bewaard bij aankomst van de kit. Controleer de juiste opslagtemperatuur, omdat blootstelling aan hogere temperaturen gedurende een langere periode tot een verlies van functionaliteit kan leiden. |

Lage A_{260}/A_{280} -waarde

Er is water gebruikt om nucleïnezuur te verdunnen voor de A_{260}/A_{280} -meting.

Gebruik voorafgaand van het meten van de zuiverheid 10 mM Tris Cl, pH 7,5, en geen water om het monster te verdunnen.


DNA presteert niet goed in vervolgassays/-toepassingen

Carry-over van ethanol

Het centrifugeren van QIAamp MinElute-kolommen op volle snelheid is vereist in 2 stappen van de procedure: Tijdens de tweede wasbeurt met Buffer AW2 dient u gedurende 2 minuten te centrifugeren op $\geq 8000 \times g$ bij 15-25 °C om het membraan van de QIAamp MinElute Spin Column te drogen. Verwijder de kolom na het centrifugeren voorzichtig uit het verzamelbuisje, zodat de kolom niet in aanraking komt met de doorgelopen vloeistof. Plaats de kolom vervolgens in een nieuw verzamelbuisje en centrifugeer het 5 minuten lang op volle snelheid. Centrifugeren op volle snelheid is ook vereist om het monster naar beneden te krijgen na de xyleenbehandeling en na de wasstap met ethanol.







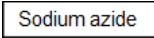


Symbolen

De volgende symbolen worden in de gebruiksaanwijzing of op de verpakking en etiketten weergegeven:

| Symbol | Symboldefinitie |
|---|---|
|  <N> | Bevat voldoende reagentia voor <N> reacties |
|  | Uiterste gebruiksdatum |
|  | Dit product voldoet aan de vereisten van de Europese regelgeving 2017/746 inzake in-vitrodiagnostische medische hulpmiddelen. |
|  | In-vitrodiagnostisch medisch hulpmiddel |
|  | Catalogusnummer |
|  | Partijnummer |
|  | Materiaalnummer (m.b.t. labeling van componenten) |
|  | Bestanddelen |
|  | Bevat |
|  | Nummer |

Symbol

Symboldefinitie

| | |
|---|---|
|  | Global Trade Item Number |
| Rn | 'R' staat voor de revisie van de gebruiksaanwijzing; 'n' is het revisienummer |
|  | Temperatuurbepering |
|  | Fabrikant |
|  | Raadpleeg de gebruiksaanwijzing |
|  | Verwijderd houden van zonlicht |
|  | Waarschuwing/voorzichtig |
|  | Proteïnase K |
|  | Natriumazide |
|  | Bij aankomst |
|  | Schrijf na toevoeging van ethanol aan het flesje de huidige datum op _____ |

Symbool

Symbooldefinitie

| | |
|--------------------|--------------------------------------|
| EtOH | Ethanol |
| ADD | Toevoegen |
| GuHCl | Guanidinehydrochloride |
| MALEIC ACID | Maleïnezuur |
| UDI | Uniek hulpmiddel-identificatienummer |

Bijlage: Verwerken

Algemeen werk

Draag altijd latex of vinyl handschoenen bij het hanteren van reagentia en monsters om contaminatie vanaf de huid of door stof van laboratoriumapparatuur te voorkomen. Op de handen en op stofdeeltjes kunnen bacteriën en schimmels aanwezig zijn; dit zijn veelvoorkomende bronnen van besmetting. Trek regelmatig schone handschoenen aan en houd alle buisjes gesloten. Voorkom microbiële besmetting van de reagentia uit de kit.

Wegwerpbare kunststof instrumenten

Het wordt aangeraden om tijdens de gehele procedure gebruik te maken van steriele, wegwerpbare polypropyleen buisjes.

Bestelgegevens

| Product | Inhoud | Cat.nr. |
|---|--|---------|
| QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit — voor het zuiveren van genomisch DNA uit in paraffine ingebed weefsel | | |
| QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (50) | Voor 50 DNA-bereidingen: 50 QIAamp MinElute-kolommen, proteïnase K, buffers, wasbuisjes (2 ml), elutiebusjes (1,5 ml), lysebusjes (2 ml) | 60404 |

Raadpleeg voor bijgewerkte licentie-informatie en productspecifieke disclaimers de desbetreffende gebruiksaanwijzingen van de QIAGEN-kit. De gebruiksaanwijzingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via www.qiagen.com of kunnen worden aangevraagd bij de technische diensten van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

Revisiegeschiedenis van document

| Revisie | Beschrijving |
|-------------------|--|
| R1, juni 2022 | <ul style="list-style-type: none">● Update naar kitversie 2 voor naleving van IVDR● Update van gedeelte Beschrijving en principe● Update van gedeelte Benodigde, maar niet-meegeleverde materialen● Update van gedeelte Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen● Update van gedeelte Opslag en hantering van reagentia● Update van gedeelte Gids voor problemen oplossen● Update van de Bijlage |
| R2, februari 2023 | <ul style="list-style-type: none">● Update van het gedeelte Opslag en verwerking van monsters |

Beperkte licentieovereenkomst voor QIAamp DSP DNA Kit

Door dit product te gebruiken verklaart de koper of gebruiker zich akkoord met de volgende voorwaarden:

1. Het product mag uitsluitend worden gebruikt in overeenstemming met de protocollen die bij het product en deze handleiding zijn meegeleverd en mag alleen worden gebruikt met onderdelen die zich in het paneel bevinden. QIAGEN geeft onder haar intellectuele eigendom geen licentie om de bijgesloten onderdelen van dit paneel te gebruiken of samen te stellen met onderdelen die niet bij het paneel zijn meegeleverd, behalve zoals beschreven in de protocollen die bij het product en deze handleiding zijn meegeleverd en in aanvullende protocollen die beschikbaar zijn op www.qiagen.com. Enkele van deze aanvullende protocollen zijn door QIAGEN-gebruikers geleverd aan QIAGEN-gebruikers. Deze protocollen zijn niet grondig door QIAGEN getest of geoptimaliseerd. QIAGEN garandeert deze protocollen niet en garandeert evenmin dat ze geen rechten van derden schenden.
2. Anders dan uitdrukkelijk gesteld in licenties, garandeert QIAGEN niet dat dit paneel en/of het gebruik ervan geen rechten van derden schenden.
3. Dit paneel en de onderdelen ervan worden in licentie gegeven voor eenmalig gebruik en mogen niet worden hergebruikt, opgeknapt of doorverkocht.
4. QIAGEN doet in het bijzonder afstand van enige andere licenties die worden genoemd of geïmpliceerd, anders dan de uitdrukkelijk gestelde.
5. De koper en gebruiker van het paneel gaan ermee akkoord dat zij geen stappen ondernemen en niemand anders toestaan stappen te ondernemen die tot bovenstaande verboden handelingen kunnen leiden of deze vergemakkelijken. QIAGEN mag de verbodsbepalingen in deze Beperkte licentieovereenkomst afdwingen bij de rechter en zal alle onderzoekskosten en gerechtelijke kosten, inclusief advocaatkosten, verhalen bij elke handeling om deze Beperkte licentieovereenkomst of een intellectueel eigendomsrecht in verband met het paneel en/of de onderdelen ervan af te dwingen.

Raadpleeg www.qiagen.com voor de bijgewerkte licentievoorwaarden.

Handelsmerken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, MinElute® (QIAGEN Group); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.).

Feb-2023 HB-3033-002 1130780NL © 2023 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

