

Χαρακτηριστικά απόδοσης του RNeasy[®] DSP FFPE Kit

Έκδοση 2

IVD

Για in vitro διαγνωστική χρήση

Για χρήση με το RNeasy DSP FFPE Kit

CE

REF

73604



R1

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Γερμανία

Τα χαρακτηριστικά απόδοσης διατίθενται ηλεκτρονικά στην καρτέλα πόρων στη σελίδα του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com

Γενική εισαγωγή

Το RNeasy DSP FFPE Kit είναι ένα σύστημα που προορίζεται για τον μη αυτόματο καθαρισμό ολικού RNA από ιστούς μονιμοποιημένους σε φορμαλίνη και εγκλεισμένους σε παραφίνη (Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE).

Το προϊόν προορίζεται για χρήση από επαγγελματίες, όπως τεχνολόγους και ιατρούς που έχουν εκπαιδευθεί σε τεχνικές μοριακής βιολογίας. Χρησιμοποιεί ένα βελτιστοποιημένο πρωτόκολλο που βασίζεται σε στήλη φυγοκέντρησης από πυρίτιο και περιλαμβάνει ενζυμική αφαίρεση του υπολειπόμενου DNA.

Το RNeasy DSP FFPE Kit απομονώνει τα μόρια RNA μήκους άνω των 70 νουκλεοτιδίων και παρέχει ανάκτηση χρησιμοποιήσιμων τμημάτων RNA για καθοδικές (downstream) εφαρμογές όπως RT-PCR.

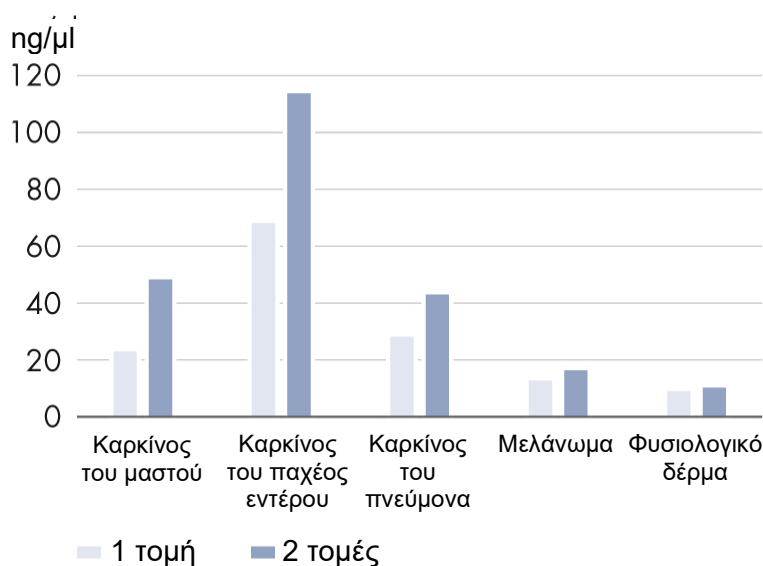
Απόδοση κεκαθαρμένου RNA

Η βασική απόδοση του RNeasy DSP FFPE Kit αξιολογήθηκε με τη χρήση δειγμάτων FFPE από 5 διαφορετικούς ανθρώπινους ιστούς (καρκίνος του μαστού, του παχέος εντέρου, του πνεύμονα, μελάνωμα και φυσιολογικό δέρμα, 20 δείγματα το καθένα).

Τα δείγματα FFPE μπορεί να εμφανίσουν υψηλό βαθμό ετερογένειας των ιστών. Επιπλέον, το εμβαδόν των ιστών είναι εξαιρετικά μεταβλητό στα δείγματα FFPE, με αποτέλεσμα η ποσότητα εκχυλισμένου RNA να είναι μεταβλητή. Συνεπώς, ο χρήστης θα πρέπει να βελτιστοποιεί τον αριθμό των τομών, το πάχος των τομών και το εμβαδόν των τομών για το δείγμα ενδιαφέροντος και οποιοσδήποτε καθοδικές διαδικασίες που χρησιμοποιούνται στο εργαστήριό του.

Εάν το kit χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με καθοδική εφαρμογή QIAGEN®, ανατρέξτε στο σχετικό εγχειρίδιο για οδηγίες.

Η ανεπαρκής αφυδάτωση των ιστών κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας ιστών FFPE, με την προσθήκη υπερβολικής ποσότητας παραφίνης στο δείγμα στο σωληνάριο εκχύλισης, με τη χρήση αιθανόλης χαμηλότερης καθαρότητας (μη καθαρότητας μοριακής βιολογίας) από τη συνιστώμενη ή με τη διατήρηση της αιθανόλης στο δείγμα μπορεί να οδηγήσει σε υποβέλτιστη εκχύλιση και χαμηλή ποσότητα RNA ή μειωμένη καθοδική απόδοση.



Εικόνα 1. Απόδοση RNA από διαφορετικούς ανθρώπινους ιστούς (32 μl όγκος έκλουσης).

Καθοδική ανάλυση

Το εκλουσμένο RNA είναι έτοιμο για χρήση σε καθοδικούς προσδιορισμούς. Για την αξιολόγηση της απόδοσης, απομονώθηκαν 10 ng RNA με το RNeasy DSP FFPE Kit από 5 διαφορετικούς ανθρώπινους ιστούς (καρκίνος του μαστού, του παχέος εντέρου, του πνεύμονα, μελάνωμα και φυσιολογικό δέρμα, 20 δείγματα αποτελούμενα από μία ή δύο τομές) και επικυρώθηκαν με τη χρήση του RT-PCR, στοχεύοντας το ανθρώπινο γονίδιο της β-ακτίνης. Η ενίσχυση ήταν επιτυχής, γεγονός που καταδεικνύει ότι το RNA που απομονώθηκε με το RNeasy DSP FFPE Kit μπορεί να χρησιμοποιηθεί για καθοδική ανάλυση.

Ο χρήστης θα πρέπει να βελτιστοποιήσει τον αριθμό των τομών, το πάχος των τομών και το εμβαδόν των τομών για το δείγμα ενδιαφέροντος, καθώς και οποιεσδήποτε μεταγενέστερες διαδικασίες που χρησιμοποιούνται στο εργαστήριό του, ή να ανατρέξει στην ειδική απόδοση του σχετικού καθοδικού προσδιορισμού.

	Καρκίνος του μαστού	Καρκίνος του παχέος εντέρου	Καρκίνος του πνεύμονα	Μελάνωμα	Φυσιολογικό δέρμα
RT-PCR 1 τομή	✓	✓	✓	✓	✓
RT-PCR 2 τομές	✓	✓	✓	✓	✓

Εικόνα 2. Επιτυχής ενίσχυση RT-PCR τομών FFPE των 10 μm που προέρχονται από πέντε διαφορετικούς υπό εξέταση ανθρώπινους ιστούς.

Σταθερότητα εκλουσμάτων

Η σταθερότητα των εκλουσμάτων θα εξαρτηθεί από το περιεχόμενο και τον τύπο των ταυτόχρονα κεκαθαμένων προσμίξεων (που σχετίζονται με τον τύπο του ιστού), τον όγκο έκλουσης και τις συνθήκες αποθήκευσης. Συνιστάται οι χρήστες να καθορίζουν τη σταθερότητα των εκλουσμάτων, όπως απαιτείται, με βάση τις ιδιαίτερες απαιτήσεις τους.

Η σταθερότητα των εκλουσμάτων εξετάστηκε για δείγματα ανθρώπινου RNA προερχόμενα από ιστούς FFPE και αποθηκευμένα σε θερμοκρασία -15 έως -30 °C και -60 έως -90 °C. Δεν παρατηρήθηκε επιδείνωση για έως και 12 εβδομάδες και τα εκλούσματα που ήταν αποθηκευμένα σε θερμοκρασία δωματίου (18-25 °C) παρέμειναν σταθερά για έως και 12 ώρες. Όλες οι συνθήκες αξιολογήθηκαν με τη χρήση RT-PCR, η οποία στόχευε το ανθρώπινο γονίδιο της β-ακτίνης.

Εάν το kit χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με καθοδικές εφαρμογές QIAGEN, ανατρέξτε στο σχετικό εγχειρίδιο kit για οδηγίες.

Επαναληψιμότητα

Η επαναληψιμότητα αξιολογήθηκε με τη χρήση δείγματος FFPE ερυθροβλαστών. Τα δείγματα εξετάστηκαν με εσωτερικά επικυρωμένο προσδιορισμό για τμήμα 295 bp του ανθρώπινου γονιδίου της β-ακτίνης σε κυκλοποιητή ABI® 7900 real-time PCR.

Για τους σκοπούς στατιστικής ανάλυσης, χρησιμοποιήθηκαν 108 σημεία δεδομένων από τρεις παρτίδες εκχύλισης (ίδια παρτίδα κιτ, χειριστής και ημέρα). Η στατιστική ανάλυση περιλάμβανε τον υπολογισμό της τυπικής απόκλισης (standard deviation, SD) και του συντελεστή μεταβλητότητας (coefficient variation, CV) των τιμών C_T που προήλθαν από τη χρήση β-actin RT-PCR. Η τυπική απόκλιση (SD) ήταν 1,1 C_T και ο συντελεστής μεταβλητότητας (CV) ήταν 4,1% (Πίνακας 1).

Πίνακας 1. Αποτελέσματα επαναληψιμότητας

	Επαναληψιμότητα		
	Μέση τιμή C _T	SD	CV (%)
Παρτίδα 1	26,64	1,01	3,81
Παρτίδα 2	27,51	1,16	4,2
Παρτίδα 3	27,23	0,95	3,5
Παρτίδα 1 + 2+ 3	27,13	1,11	4,07

Αναπαραγωγιμότητα

Ο έλεγχος αναπαραγωγιμότητας πραγματοποιήθηκε με την αξιολόγηση εκχυλίσεων RNA από δείγματα FFPE ερυθροβλαστών με διαφορετικούς χειριστές, σε διαφορετικές ημέρες και διαφορετικούς χειριστές και ημέρες. Τα δείγματα εξετάστηκαν με έναν εσωτερικά επικυρωμένο προσδιορισμό για τμήμα 295 bp του ανθρώπινου γονιδίου της β-ακτίνης σε κυκλοποιητή ABI 7900 real-time PCR. Για τους σκοπούς στατιστικής ανάλυσης, χρησιμοποιήθηκαν 108 σημεία δεδομένων από τρεις παρτίδες εκχύλισης για κάθε περιβάλλον εξέτασης. Η στατιστική ανάλυση περιλάμβανε τον υπολογισμό της τυπικής απόκλισης (SD) και του συντελεστή μεταβλητότητας (CV) των τιμών C_T που προήλθαν από τη χρήση β-actin RT-PCR (Πίνακας 2).

Πίνακας 2. Αποτελέσματα αναπαραγωγιμότητας

	Επαναληψιμότητα		
	Μέση τιμή C _T	SD	CV (%)
Διαφορετικοί χειριστές	26,92	1,06	3,95
Διαφορετικές ημέρες	26,56	1,20	4,53
Διαφορετικοί χειριστές και ημέρες	26,63	1,01	3,78

Γραμμικότητα εισαγωγής δειγμάτων

Το RNeasy DSP FFPE Kit μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την απομόνωση RNA από διαφορετικούς τύπους ιστών FFPE. Το σύστημα επικυρώθηκε για τη χρήση 1–4 τομών από ερυθροβλάστες ιστών FFPE και κατέδειξε γραμμική αύξηση της απόδοσης RNA. Θα πρέπει να καθοριστεί γραμμικό εύρος σύμφωνα με τις απαιτήσεις του εκάστοτε πελάτη και να επικυρωθεί για τη συγκεκριμένη χρήση. Διαφορετικά γραμμικά εύρη αναμένονται για διαφορετικούς τύπους ιστών, ανάλογα με τη φόρτωση των ιστών στο σύστημα, καθώς και τα χαρακτηριστικά των ιστών και τους καθοδικούς προσδιορισμούς.

Παρεμβαλλόμενες ουσίες

Δυνητικώς παρεμβαλλόμενες ουσίες μπορούν να προέρχονται από διάφορες πηγές, π.χ., φυσικούς μεταβολίτες ειδικούς για τον τύπο του ιστού και του οργάνου, μεταβολίτες που παράγονται κατά τη διάρκεια παθολογικών καταστάσεων, ουσίες που εισάγονται κατά τη διάρκεια της θεραπείας του ασθενούς ή ουσίες που προσλαμβάνει ο ασθενής. Λόγω του σύνθετου χαρακτήρα των δυνητικώς παρεμβαλλόμενων ουσιών και της διαφορετικής ευαισθησίας της εκάστοτε καθοδικής εφαρμογής, συνιστούμε οι χρήστες να αξιολογούν την επίδραση των παρεμβαλλόμενων ουσιών για τα συστήματά τους και να επικυρώνουν μια μέθοδο για τον έλεγχο των παρεμβολών στη διαγνωστική καθοδική εφαρμογή που χρησιμοποιούν.

Δεν παρατηρήθηκαν παρεμβαλλόμενες ουσίες που προέρχονται από στοιχεία του RNeasy DSP FFPE Kit κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας δείγματος και της εκχύλισης RNA.



















Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τις παρεμβαλλόμενες ουσίες σε συγκεκριμένες καθοδικές εφαρμογές QIAGEN, ανατρέξτε στα εγχειρίδια kit.

Διασταυρούμενη επιμόλυνση

Για την αξιολόγηση του επιπέδου διασταυρούμενης επιμόλυνσης, 500 ng ολικού RNA από αίμα εμπλουτίστηκαν στο διάλυμα αποπαραφίνωσης και απομονώθηκαν δίπλα σε σωληνάρια που δεν περιείχαν RNA (σωληνάρια εκχύλισης με αρνητικά δείγματα). Στόχος της μελέτης ήταν η μίμηση της κατάστασης κατά την οποία τα δείγματα που περιέχουν υψηλό επίπεδο μορίων-στόχων RNA μπορούν να προκαλέσουν διασταυρούμενη επιμόλυνση σε άλλα δείγματα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας εκχύλισης. Ο καθαρισμός RNA πραγματοποιήθηκε με τη χρήση μίας παρτίδας αντιδραστηρίων. Η διασταυρούμενη επιμόλυνση αξιολογήθηκε με τη χρήση RT-PCR, η οποία στόχευε το ανθρώπινο γονίδιο της β-ακτίνης. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν μηδενική διασταυρούμενη επιμόλυνση σε ολόκληρο το σύστημα.

Σύμβολα

Τα παρακάτω σύμβολα εμφανίζονται στις οδηγίες χρήσης ή στη συσκευασία και την επισήμανση:

Σύμβολο	Ορισμός συμβόλου
 Σ <N>	Περιέχει αντιδραστήρια που επαρκούν για <N> αντιδράσεις
	Ημερομηνία λήξης
	Το προϊόν πληροί τις απαιτήσεις του Ευρωπαϊκού Κανονισμού 2017/746 για τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα.
	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Κατά την παραλαβή
	DN
	RNeasy MinElute Spin
	Αριθμός καταλόγου
	Αριθμός παρτίδας
	Αριθμός υλικού (δηλ. επισήμανση στοιχείου)
	Στοιχεία (δηλ. κατάλογος περιεχομένων)
	Περιεχόμενο (περιεχόμενα)
	Αριθμός (δηλ. φιαλιδίων, φιαλών)
	Διεθνής κωδικός μονάδων εμπορίας
Rn	Το R αφορά την αναθεώρηση των οδηγιών χρήσης (εγχειρίδιο) και το n είναι ο αριθμός αναθεώρησης
	Περιορισμός θερμοκρασίας
	Κατασκευαστής
	Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης
	Προσοχή

Σύμβολο**Ορισμός συμβόλου****PROTK**

Πρωτεΐνάση K

Sodium azide

Αζίδιο του νατρίου

UDI

Αποκλειστικό αναγνωριστικό ιατροτεχνολογικού προϊόντος

Ιστορικό αναθεώρησης εγγράφου

Αναθεώρηση

Περιγραφή

R1, Ιούνιος 2022

Κυκλοφορία IVDR

Για ενημερωμένες πληροφορίες σχετικά με τις άδειες χρήσης και για δηλώσεις αποποίησης ευθύνης σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, βλ. το αντίστοιχο εγχειρίδιο kit ή εγχειρίδιο χρήστη της QIAGEN. Τα εγχειρίδια kit και τα εγχειρίδια χρήστη της QIAGEN είναι διαθέσιμα στον ιστότοπο www.qiagen.com. Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της QIAGEN ή τον αντιπρόσωπο της περιοχής σας.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, Sample to Insight®, RNeasy® (Όμιλος QIAGEN); ABI® (Life Technologies Corporation). Οι καταχωρισμένες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα, κ.λπ., που χρησιμοποιούνται στο παρόν έγγραφο δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευόμενα από τον νόμο, ακόμα και αν αυτό δεν υποδεικνύεται ρητώς.
06/2022 HB-3027-D01-001 © 2022 QIAGEN, με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

