




Prestandaegenskaper

QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue-kit, version 1 **REF** 60404

Versionshantering

Detta dokument innehåller prestandaegenskaperna för QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kit, version 1, R3.

  	Kontrollera om det finns några nya elektroniska märkningsrevisioner på www.qiagen.com/HB-0414 innan testet utförs. Nuvarande revisionsstatus anges av utgivningsdatumet (format: månad/år).
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Nedströmsanalys

Eluerat genomiskt DNA är klart att använda i olika nedströmsanalyser, däribland olika diagnostiska nedströms in vitro-analyser. Se mer information om specifik systemprestanda i relevant QIAGEN-kithandbok.

Utbyte av renat DNA

Formalinfixerade paraffinbäddade (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE) prover kan uppvisa en hög grad av vävnadsheterogenitet. Dessutom är vävnadsytområdet mycket varierbart i FFPE-prover, vilket leder till en variabel mängd av extraherat DNA. Därför ska användaren optimera antalet sektioner, sektionstjocklek och sektionssyta för sitt intresseprov och alla procedurer som används i deras laboratorium.

Om kitet används tillsammans med en QIAGEN-nedströmsapplikation, se instruktioner i relevant handbok.

Otillräcklig vävnadsdehydrering under beredningen av FFPE-vävnaden, att placera för mycket paraffin med provet till extraktionsrör, att använda etanol med lägre renhet (ej molekylärbiologisk grad) än den rekommenderade eller kvarblivande xylene eller etanol i provet kan leda till

suboptimal extraktion låg DNA-kvantitet.

Repeterbarhet

Repeterbarheten bedömdes med sex FFPE-cellinjer genererade från humana celler fixerade i formalin och inbäddade i paraffin. Proverna testades med QuantiTect® SYBR® Green-mastermix och genspecifika β -aktinprimer tillsammans med Rotor-Gene® Q PRC-cykler i realtid. PCR-reaktioner utfördes för ett 174 bp-fragment och för ett 218 bp-fragment av den humana β -aktinogenen.

För den statistiska analysen användes 72 datapunkter för varje fragmentstorlek. Den statistiska analysen innefattade beräkning av standardavvikelsen (standard deviation, SD) och övre och undre 95 % konfidensgränser. Variationen beräknades med varianskomponentanalys som standardavvikelsen för 218 bp-fragmentet (SD: 0,342 C_T ; undre 95 % konfidensgräns: 0,291; övre 95 % konfidensgräns: 0,413). Detta kan användas som en uppskattning av repeterbarheten för extraktionsprocessen. Variationen som uppskattades för 174 bp-fragmentet var 0,258 C_T ; undre 95 % konfidensgräns: 0,220; övre 95 % konfidensgräns: 0,312.

Reproducerbarhet

Bedömning av reproducerbarhet utfördes över tre laboratorier med tre kliniska FFPE-prover innehållande vävnad av icke-småcellig lungcancer (non-small cell lung cancer, NSCLC): en som hyste en deletion 6223-mutation, en som hyste en L858R-mutation och ett prov av vild typ (wild-type, WT). De kliniska FFPE-proverna valdes utifrån sin kända mutationsstatus enligt Sanger-sekvensering.

För vart och ett av de mutanta kliniska FFPE-proverna slumpades 48 sekventiella FFPE-sektioner i par att användas i en extraktion och delas i tre batchar, en batch per testplats.

Extraktioner utfördes dubbelt på varje testplats. Varje plats använde en unik lot av QIAamp FFPE DNA DSP Kits för extraktion. Prov- och mutationsbedömning utfördes med *therascreen* EGFR RGQ PCR-kit på alla tre platserna. Proverna testades på tre ej på varandra följande dagar under en period på sex dagar. Varje prov testades sex gånger på varje plats, vilket gav totalt 18 datapunkter per prov.

För alla prover, över alla tre platserna, påvisades 100 % korrekta mutationsanrop.

Linjäritet

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kit kan användas för att isolera DNA från olika typer av vävnad. Ett linjärt område ska fastställas enligt kundkraven och valideras för den aktuella användningen. Olika linjära områden förväntas för olika vävnadstyper, beroende på laddningen av vävnad i systemet samt på vävnadsegenskaper.

Störande substanser

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kit kan användas för att isolera DNA från olika typer av vävnad. Potentiellt störande substanser kan härröra från olika källor, t.ex. naturliga metaboliter som är specifika för vävnadstyp och organ, metaboliter som produceras under patologiska förhållanden, substanser som introduceras under patientbehandling eller substanser som förtärs av patienten. P.g.a. de potentiellt störande ämnenas komplexitet och olika känslighet för vissa nedströmsapplikationer, rekommenderar vi att användarna bedömer effekten av störande substanser för deras egna system och validerar metoden för att kontrollera störningar i just deras diagnostiska nedströmsapplikation.

Se kithandböckerna för mer information om störande substanser i specifika QIAGEN-nedströmsapplikationer.

Korskontaminering

För att bedöma nivån av korskontaminering användes två FFPE-cellinjeprover på NSCLC: vild typ och FFPE-cellinjeprover som hyste exon 21 L858R-mutationen. Studien syftade till att härma situationen där prover innehållande en hög nivå av mutation kan korskontaminera andra prover inom extraktionsproceduren. DNA-rening utfördes för att utmana proceduren genom att rena DNA från L858R-mutanta prover placerade bredvid prover av vild typ, med en lot av reagenser. Korskontamineringen utfördes med *therascreen*[®] EGFR RGQ PCR Kit. Resultaten visade ingen korskontaminering inom hela systemet.

QIAamp DSP DNA FFPE DNA-eluatprestanda i Pyrosequencing[®]

DNA isolerad från FFPE-vävnad späddes till en DNA-koncentration på 2 ng/µl för analys med *therascreen* EGFR Pyro Assay. I alla körningar som användes för att bestämma prestandaegenskaper var signalen över 30 RLU (relativa ljusenheter) för alla kodoner, och alla prover hade en korrekt medicinsk utgång för mutationsanalysen.

Eluatstabilitet

Eluatstabilitet är beroende av innehållet och typen av samrenade orenheter (relaterat till vävnadstyp), elueringsvolym och förvaringsförhållanden. Vi rekommenderar att användarna fastställer eluatstabiliteten enligt sina egna särskilda krav.

Om kitet används tillsammans med en QIAGEN-nedströmsapplikation, se instruktioner i relevant kithandbok.

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i handboken eller bruksanvisningen till respektive QIAGEN®-kit. Handböcker och bruksanvisningar till QIAGEN-kiten finns på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN:s tekniska support eller din lokala distributör.

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

© 2017 QIAGEN, med ensamrätt. 02/2017 HB-0414-D01

Beställning www.qiagen.com/contact | Teknisk support support.qiagen.com | Webbplats www.qiagen.com