




Prestatiekenmerken

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

Versiebeheer

Dit document beschrijft de prestatiekenmerken van de QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kit, versie 1, R3.

  	Controleer voordat u een test gaat uitvoeren of er nieuwe (herziene) elektronische bijsluiters beschikbaar zijn op www.qiagen.com/HB-0414 . De status van de huidige herziening is aangegeven door middel van de uitgiftedatum (in de vorm maand/jaar).
---	---

Downstream-analyse

Het geëluereerde genomische DNA is klaar voor gebruik in verschillende vervolgbepalingen, waaronder uiteenlopende diagnostische in-vitro-assays. Raadpleeg de handleiding van de betreffende QIAGEN-kit voor meer informatie over de specifieke systeemprestaties.

Opbrengst van gezuiverd DNA

In formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde (formalin-fixed paraffin-embedded; FFPE-) monsters kunnen een hoge mate van weefselheterogeniteit vertonen. Bovendien kan het oppervlaktegebied van weefsel per FFPE-monster sterk verschillen, waardoor de hoeveelheid geëxtraheerd DNA kan variëren. Het is daarom aan de gebruiker om het aantal coupes, de dikte van coupes en het oppervlaktegebied van coupes, en alle eventuele andere procedures die in het betreffende laboratorium worden gebruikt, voor hun monsters te optimaliseren.

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.

Onvoldoende dehydratie tijdens het prepareren van het weefsel door middel van FFPE; te veel paraffine met het weefsel in het extractiebuisje; het gebruik van ethanol met een lagere dan de aanbevolen zuiverheidsgraad (niet voor moleculaire biologie); of de aanwezigheid van achtergebleven xyleen of ethanol in het monster kan leiden tot een suboptimale extractie en een lage hoeveelheid DNA.

Herhaalbaarheid

De herhaalbaarheid is beoordeeld aan de hand van zes cellijnen ontwikkeld uit menselijke cellen, gefixeerd in formaline en ingebed in paraffine. De monsters zijn getest met QuantiTect® SYBR® Green mastermix en specifieke primers voor het β -actine-gen, in het Rotor-Gene® Q real-time PCR-apparaat. De PCR-reacties werden uitgevoerd voor een fragment van 174 bp en voor een fragment van 218 bp van het menselijke β -actine-gen.

Voor de statistische analyse werden 72 datapunten gebruikt voor iedere fragmentgrootte. Bij de statistische analyse werden ook de standaarddeviatie (standard deviation, SD) en de onderste en bovenste 95%-betrouwbaarheidsgrenzen berekend. De variatie werd geschat door gebruik van de analyse van de variantiecomponent als de standaarddeviatie voor het fragment van 218 bp (SD: 0,342 C_T ; onderste 95%-betrouwbaarheidsgrens: 0,291; bovenste 95%-betrouwbaarheidsgrens: 0,413). Dit kan gebruikt worden als een schatting voor de herhaalbaarheid van het extractieproces. De geschatte variatie voor het fragment van 174 bp was 0,258 C_T ; onderste 95%-betrouwbaarheidsgrens: 0,220; bovenste 95%-betrouwbaarheidsgrens: 0,312.

Reproduceerbaarheid

De reproduceerbaarheid tussen drie verschillende laboratoria is bepaald met behulp van drie klinische FFPE-monsters met weefsel van niet-kleincellig longcarcinoom (non-small cell lung cancer, NSCLC): één monster met een deletiemutatie op 6223, één met een L858R-mutatie en één wild-type monster. De klinische FFPE-monsters waren geselecteerd op basis van hun bekende mutatiestatus, bepaald door middel van Sanger-sequencing.

Voor elk klinisch FFPE-mutatiemonster werden 48 opeenvolgende FFPE-coupees gerandomiseerd in paren om te worden gebruikt voor extractie en deze werden in drie partijen verdeeld, één partij per testlocatie.

Op iedere testlocatie werden de extracties uitgevoerd in duplo. Iedere testlocatie gebruikte voor de extractie één unieke partij van de QIAamp FFPE DNA DSP Kits. Op alle drie de locaties werd de beoordeling van de monsters en van de mutaties uitgevoerd met behulp van de *therascreen* EGFR RGQ PCR-kit. De monsters werden getest op drie niet-opeenvolgende dagen gedurende een periode van zes dagen. Elk monster werd zes keer getest op iedere locatie, waardoor in totaal 18 datapunten per monster werden verkregen.

Voor alle monsters werden in alle drie de locaties de mutaties 100% correct geïdentificeerd.

Lineariteit

De QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kit kan worden gebruikt voor het isoleren van DNA uit verschillende weefseltypen. Voor de specifieke vereisten van de klant dient een lineair bereik te worden vastgesteld en gevalideerd voor het betreffende gebruik. Voor verschillende weefseltypen is een verschillend lineair bereik te verwachten, afhankelijk van de hoeveelheid gebruikt weefsel in het systeem en de kenmerken van het betreffende weefsel.

Stoffen met een versturende werking

De QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kit kan worden gebruikt voor het isoleren van DNA uit verschillende weefseltypen. Uit verschillende bronnen kunnen stoffen afkomstig zijn die verstrend kunnen werken. Voorbeelden hiervan zijn natuurlijke omzettingsproducten die specifiek zijn voor het weefseltype en het orgaan, omzettingsproducten die geproduceerd worden onder pathologische omstandigheden, stoffen die tijdens de behandeling van de patiënt worden geïntroduceerd, of stoffen die door de patiënt zijn ingeslikt. Vanwege de complexiteit van stoffen die verstrend kunnen werken en verschillen in de gevoeligheid van specifieke vervolprocessen en -procedures, raden wij gebruikers aan het effect van verstrende stoffen voor hun eigen systemen te bepalen en de methode om verstoring tegen te gaan in hun specifieke diagnostische vervolprocedure te valideren.

Raadpleeg de handleidingen van de betreffende QIAGEN-kits voor specifieke vervolprocedures voor meer informatie over verstrende stoffen.

Kruiscontaminatie

Voor het bepalen van de mate van kruiscontaminatie zijn twee NSCLC-monsters van FFPE-cellijnen gebruikt: de wild-type cellijn en de FFPE-cellijn met de L858R-mutatie in exon 21. In dit onderzoek werd geprobeerd een situatie na te bootsen waarin monsters met een hoog mutatiegehalte via kruiscontaminatie andere monsters in dezelfde extractieprocedure kunnen verontreinigen. De zuivering van DNA werd uitgevoerd en getest door DNA te zuiveren uit monsters van de cellen met de L858R-mutatie die naast wild-type monsters waren geplaatst, met één set reagentia. De mate van kruiscontaminatie werd bepaald met behulp van de *therascreen*[®] EGFR RGQ PCR-kit. Uit de resultaten bleek dat er binnen het gehele systeem geen kruiscontaminatie was opgetreden.

Prestatie van DNA in het eluaat van de QIAamp DSP DNA FFPE-kit bij Pyrosequencing®

DNA dat geïsoleerd was uit FFPE-weefsel werd verdund tot een concentratie van 2 ng DNA/µl voor analyse met behulp van het *therascreen* EGFR Pyro-assay. In alle runs ter bepaling van de prestatiekenmerken was het signaal hoger dan 30 relatieve lichteenheden (relative light units; RLU) voor alle codons, en bij alle monsters werd de juiste medische uitkomst gevonden bij de mutatie-analyse.

Stabiliteit van het eluaat

De stabiliteit van het eluaat is afhankelijk van de samenstelling en het soort verontreinigingen die bij de zuivering zijn meegekomen (hangt samen met het weefseltype), het elutievolume en de opslagomstandigheden. Wij raden gebruikers aan de stabiliteit van het eluaat te bepalen volgens hun specifieke vereisten.

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 handleiding van de betreffende kit.

Zie voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules de handleiding of gebruikershandleiding van de betreffende QIAGEN®-kit. Handleidingen en gebruikershandleidingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via www.qiagen.com of kunnen worden aangevraagd bij de technische dienst van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

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

© 2017 QIAGEN, alle rechten voorbehouden. 02/2017 HB-0414-D01

Bestellen www.qiagen.com/contact | Technische ondersteuning support.qiagen.com | Website www.qiagen.com