




# Teljesítményjellemzők

QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue kit, 1. verzió **REF** 60404

## Verziókezelés

A jelen dokumentum a QIAamp DSP DNA FFPE Tissue kit teljesítményjellemzőit tartalmazza; 1. verzió, R3.

  	<p>A teszt elvégzése előtt a <a href="http://www.qiagen.com/HB-0414">www.qiagen.com/HB-0414</a> címen ellenőrizze, nincs-e új, átdolgozott elektronikus dokumentáció. Az aktuális átdolgozási állapotot a kibocsátás dátuma jelzi (hónap/év formátumban).</p>
---	---

## További (downstream) elemzések

Az eluált genomiális DNS azonnal felhasználható további különböző tesztekben, beleértve a további különféle in vitro diagnosztikai tesztekben. Az adott rendszerek teljesítményével kapcsolatos további információkat a megfelelő QIAGEN kit kézikönyve tartalmazza.

## A tisztított DNS hozama

A formalinban fixált, paraffinba ágyazott (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE) mintáknál nagy mértékű lehet a szöveti heterogenitás. Az FFPE mintákban a szövetek területe is nagyon változó, és ennek eredményeként a kivont DNS mennyisége is eltérő. Éppen ezért a felhasználónak a vizsgált mintához és a laboratóriumban használt eljárásokhoz kell optimalizálnia a metszetek számát, vastagságát és területét.

A kit további (downstream) QIAGEN alkalmazáshoz való használata esetében az útmutatást a vonatkozó kézikönyvben találja.

Ha az FFPE szövetminta előkészítése során nem megfelelő a szövet dehidratálása, ha a mintával együtt túl sok paraffin kerül az extrahálósóba, ha a használt etanol nem az ajánlott tisztaságú (nem molekuláris biológiai munkához alkalmas minőségű), vagy ha a mintában xilol vagy etanol marad vissza, az extrakció az optimálisnál gyengébb, a DNS mennyisége pedig kevés lesz.

## Megismételhetőség

A megismételhetőség kiértékeléséhez formalinban fixált, paraffinba ágyazott humán sejtekből létrehozott hat FFPE sejtvonalat használtunk. A mintákat QuantiTect® SYBR® Green mastermix és  $\beta$ -aktin génspecifikus primerekkel vizsgáltuk, Rotor-Gene® Q real-time PCR cyclor készüléket használva. A PCR reakciókat humán  $\beta$ -aktin gén 174 bp és 218 bp hosszúságú fragmentumán végeztük.

A statisztikai elemzéshez mindegyik fragmentumméretnél 72 adatpontot használtunk. A statisztikai elemzés keretében kiszámoltuk a szórást (standard deviation, SD), valamint a 95%-os konfidenciaintervallum felső és alsó határát. Az eltérést varianciakomponens-elemzéssel állapítottuk meg, a 218 bp hosszúságú fragmentum szórásában megadva (SD: 0,342 C<sub>T</sub>; a 95%-os konfidenciaintervallum alsó határa: 0,291; a 95%-os konfidenciaintervallum felső határa: 0,413). Ez alapján megállapítható az extrakciós folyamat megismételhetősége. A 174 bp hosszúságú fragmentumra kapott eltérés: 0,258 C<sub>T</sub>; a 95%-os konfidenciaintervallum alsó határa: 0,220; a 95%-os konfidenciaintervallum felső határa: 0,312.

## Reprodukálhatóság

A reprodukálhatóság értékelése három laboratórium bevonásával történt, három, nem-kissejtes tüdőrákos (non-small cell lung cancer, NSCLC) szövetet tartalmazó klinikai FFPE mintát használva, amelyek között volt egy 6223 deléciós mutációt hordozó, egy L858R mutációt hordozó és egy vad típus (wild-type, WT). A klinikai FFPE mintákat a Sanger-féle szekvenálással meghatározott mutációs állapotuk alapján választottuk ki.

Mindegyik mutáns klinikai FFPE minta esetében 48 szekvenciális FFPE metszetet párosítottunk randomizált módon az extrakcióhoz, majd a párokat három, vizsgálóhelyenként egy-egy csoportba osztottuk.

Az extrakciókat mindegyik vizsgálati helyen kétszer végezték el. Mindegyik vizsgálóhely a QIAamp DSP DNA FFPE kit egy meghatározott tételét használta az extrakcióhoz. A minták és a mutáció kiértékeléséhez mindhárom vizsgálóhelyen a *therascreen* EGFR RGQ PCR kitet használták. A mintákat egy hatnapos időszak alatt, három nem egymást követő napon vizsgálták. Mindegyik vizsgálóhelyen hatszor vizsgáltak minden egyes mintát, mintánként így módon 18 adatpontot nyerve.

Mindhárom vizsgálóhelyen és minden minta esetében 100%-ban helyesen mutatták ki a mutációt.

## Linearitás

A QIAamp DSP DNA FFPE Tissue kit DNS különböző típusú szövetekből való izolálására szolgál. A felhasználói követelmények szerint meg kell állapítani egy lineáris tartományt, és azt az adott használathoz kell validálni. A különböző szövettípusokhoz különböző lineáris tartományok várhatók; a tartományok a rendszerbe betöltött szövetből és a szövet jellemzőitől függenek.

## Zavaró anyagok

A QIAamp DSP DNA FFPE Tissue kit DNS különböző típusú szövetekből való izolálására szolgál. A potenciálisan zavaró anyagok forrásai különbözőek lehetnek, például az adott szövettípusra és szervre jellemző természetes metabolitok, patológias körülmények között termelt metabolitok, a beteg kezelése során bevitt anyagok vagy a beteg által lenyelt anyagok. A potenciálisan zavaró anyagok komplexitása és az adott további alkalmazások eltérő érzékenysége miatt azt javasoljuk, hogy a felhasználók saját rendszerükre vonatkozóan értékeljék ki a zavaró anyagok hatását, és validálják a saját további diagnosztikai alkalmazásuk esetében a zavaró hatás csökkentésére alkalmazott módszert.

A további egyes QIAGEN alkalmazásokra vonatkozó zavaró anyagokkal kapcsolatos bővebb információkat a kitek kézikönyve tartalmazza.

## Keresztszennyeződés

A keresztszennyeződések szintjének kiértékeléséhez két NSCLC FFPE sejtvonalmintát használtunk: vad típust és az exon 21 L858R mutációt hordozó FFPE sejtvonalmintát. A vizsgálat célja olyan helyzet szimulálása, amelyben az extrakciós eljárás során az erős mutációt tartalmazó minták és más minták között keresztszennyeződés léphet fel. Az eljárás próbájaként a DNS-tisztítást a következőképpen végeztük: a vad típusú minták mellé helyezett L858R mutáns mintákból egy reagenstételt használva tisztítottunk DNS-t. A keresztszennyeződés kiértékeléséhez a *therascreen*<sup>®</sup> EGFR RGQ PCR kitet használtuk. Az eredmények a teljes rendszeren belül a keresztszennyeződés hiányát mutatták.

## A QIAamp DSP DNA FFPE DNS eluátum teljesítménye a Pyrosequencing<sup>®</sup> alkalmazásban

Az FFPE szövetből izolált DNS-t 2 ng/μl DNS-koncentrációra hígítottuk a *therascreen* EGFR Pyro teszttel végzett elemzéshez. A kapott jel a teljesítményjellemzők meghatározásához használt valamennyi mérésnél 30 RLU (relatív fényegység) felett volt az összes kodonnál, és a mutációelemzés minden minta esetében sikeres volt (pontos orvosi eredményt adott).

---

## Az eluátum stabilitása

Az eluátum stabilitása az együtt tisztított (szövetítushoz kapcsolódó) szennyezők tartalmától és típusától, az eluátum térfogatától és a tárolási körülményektől függ. Azt javasoljuk, hogy a felhasználók saját speciális követelményeik szerint állapítsák meg az eluátum stabilitását.

A kit további QIAGEN alkalmazáshoz való használata esetében az útmutatást a megfelelő kit kézikönyvében találja.

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN® kit kézikönyvében vagy felhasználói útmutatójában található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói útmutatói a [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) webhelyen érhetők el, vagy a QIAGEN Műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

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

© 2017 QIAGEN, minden jog fenntartva. 02/2017 HB-0414-D01

---

---

Rendelés: [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Műszaki támogatás: [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Webhely: [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)