

# Prestandaegenskaper för RNeasy<sup>®</sup> DSP FFPE Kit

Version 2

**IVD**

För in vitro-diagnostisk användning

För användning med RNeasy DSP FFPE Kit

**CE**

**REF**

73604



R1

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

Prestandaegenskaper finns tillgängliga elektroniskt och finns i resursfliken på  
produkt sidan på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Allmän introduktion

RNeasy DSP FFPE Kit är avsett för manuell rening av total RNA från formalinfixerade och paraffinbäddade (Formalin-Fixed, Paraffin Embedded, FFPE) vävnader.

Produkten är avsedd att användas av yrkesanvändare, t.ex. laboratorietekniker och läkare, som är utbildade i molekylärbioologiska tekniker. Den använder ett optimerat silikonkolonnbaserat protokoll och omfattar enzymatiskt avlägsnande av resterande DNA.

RNeasy DSP FFPE Kit isolerar RNA-molekyler längre än 70 nukleotider och ger utbyte av användbara RNA-fragment för efterföljande tillämpningar såsom RT-PCR.

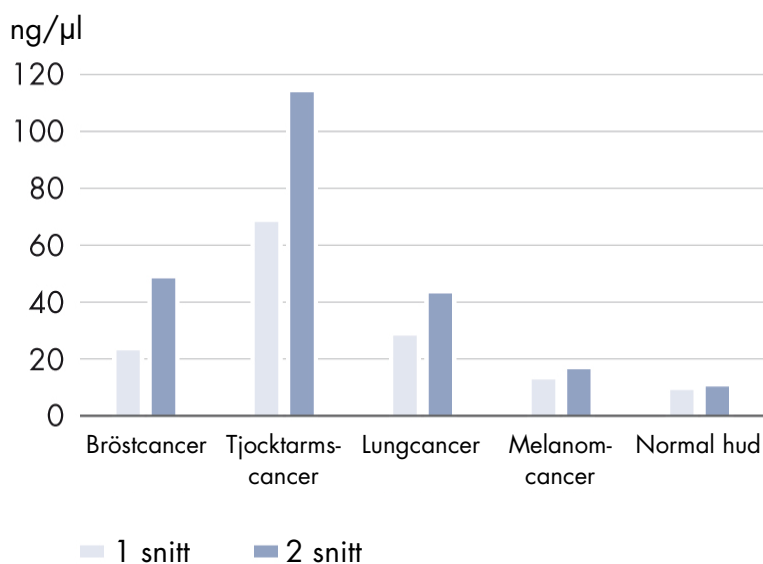
## Utbyte av renat RNA

Den grundläggande prestandan för RNeasy DSP FFPE Kit utvärderades med FFPE-prover från fem olika humanvävnader (bröst-, tjocktarms-, lung- och melanomcancer samt normal hud, 20 prover vardera).

FFPE-prover kan uppvisa en hög grad av vävnadsheterogenitet. Dessutom är vävnadsytarean mycket varierande i FFPE-prover vilket leder till varierande kvantitet av extraherat RNA. Därför bör användaren optimera antalet snitt, snittjocklek och snittyta för sitt prov av intresse och eventuella efterföljande procedurer som används i laboratoriet i fråga.

Om satsen används tillsammans med en efterföljande QIAGEN®-tillämpning, se relevant handbok för instruktioner.

Otillräcklig vävnadsdehydratisering under FFPE-vävnadsberedning, för mycket tillsättning av paraffin till provet i extraktionsröret, användning av etanol med lägre renhet (inte molekylärbioologisk kvalitet) än rekommenderat eller kvarhållande av etanol i provet kan leda till suboptimal extraktion och låg RNA-kvalitet eller minskad efterföljande prestanda.



Figur 1. RNA-utbyten från olika humanvävnader (32 μl elueringsvolym).

## Nedströmsanalys

Eluerat RNA är bruksfärdigt för nedströmsanalyser. För att utvärdera prestanda isolerades 10 ng RNA med RNeasy DSP FFPE Kit från fem olika humanvävnader (bröst-, tjocktarms-, lung- och melanomcancer samt normal hud, 20 prover bestående av ett eller två snitt) och validerades med RT-PCR riktad mot human  $\beta$ -aktingen. Amplifiering var framgångsrik och visade att RNA isolerat med RNeasy DSP FFPE Kit kan användas för nedströmsanalys.

Användaren bör optimera antalet snitt, snittjocklek och snittyta för sitt prov av intresse och eventuella efterföljande procedurer som används i laboratoriet i fråga eller referera till den specifika prestandan för den relevanta nedströmsanalysen.

	Bröstcancer	Tjocktarmscancer	Lungcancer	Melanomcancer	Normal hud
RT-PCR 1 snitt	✓	✓	✓	✓	✓
RT-PCR 2 snitt	✓	✓	✓	✓	✓

Figur 2. Framgångsrik RT-PCR-amplifiering av 10  $\mu$ m FFPE-snitt från fem olika testade humanvävnader.

## Eluatstabilitet

Eluatstabiliteten beror på innehållet och typen av samtidigt renade orenheter (relaterade till vävnadstyp), elueringsvolym och förvaringsförhållanden. Vi rekommenderar att användare fastställer eluatstabiliteten efter behov för sina specifika krav.

Eluatstabiliteten testades för humana RNA-prover från FFPE förvarade vid  $-15$  till  $-30$  °C och  $-60$  till  $-90$  °C. Ingen försämring observerades i upp till 12 veckor och eluat som förvarades vid rumstemperatur ( $18$ – $25$  °C) var stabila i upp till 12 timmar. Alla förhållanden utvärderades med användning av RT-PCR riktad mot den humana  $\beta$ -aktingenen.

Om satsen används tillsammans med efterföljande QIAGEN-tillämpning, se relevant satshandbok för anvisningar.

## Repeterbarhet

Repeterbarhet utvärderades med FFPE-prov av kärnförsedda humanblodkroppar. Proverna testades med en internt validerad analys för ett 295 bp-fragment av den humana  $\beta$ -aktingenen på ett ABI® 7900 real-time PCR-instrument.

För statistisk analys användes 108 datapunkter från tre extraktionssatser (samma satsparti, operatör och dag). Statistisk analys omfattade beräkningen av standardavvikelse (SD) och variationskoefficient (CV) för  $C_T$ -värdena från  $\beta$ -aktin-RT-PCR. SD var 1,1  $C_T$  och CV var 4,1 % (tabell 1).

**Tabell 1. Resultat av repeterbarhet**

	Repeterbarhet		
	Genomsnittlig C <sub>T</sub>	SD	CV (%)
Sats 1	26,64	1,01	3,81
Sats 2	27,51	1,16	4,2
Sats 3	27,23	0,95	3,5
Sats 1 + 2 + 3	27,13	1,11	4,07

## Reproducerbarhet

Reproducerbarhet utfördes genom att bedöma RNA-extraktioner från FFPE-prover av kärnförsedda humanblodkroppar med olika operatörer, under olika dagar och olika operatörer och dagar. Prover testades med en internt validerad analys för ett 295 bp-fragment av den humana  $\beta$ -aktinogenen på ett ABI 7900 real-time PCR-instrument. För statistisk analys användes 108 datapunkter från tre extraktionssatser för varje testinställning. Statistisk analys omfattade beräkningen av standardavvikelse (SD) och variationskoefficient (CV) för C<sub>T</sub>-värdena från  $\beta$ -aktin-RT-PCR (tabell 2).

**Tabell 2. Resultat av reproducerbarhet**

	Repeterbarhet		
	Genomsnittlig C <sub>T</sub>	SD	CV (%)
Olika operatörer	26,92	1,06	3,95
Olika dagar	26,56	1,20	4,53
Olika operatörer och dagar	26,63	1,01	3,78

## Linjäritet av provindata

RNeasy DSP FFPE Kit kan användas för isolering av RNA från olika FFPE-vävnadstyper. Systemet validerades för användning av 1–4 snitt från FFPE-prover av kärnförsedda humanblodkroppar och uppvisade en linjär ökning av RNA-utbyte. Ett linjärt intervall ska fastställas enligt kundkrav och valideras för den särskilda användningen. Olika linjära intervall förväntas för olika vävnadstyper, beroende på vävnadslasten i systemet samt vävnadsegenskaper och nedströmsanalyser.

## Interfererande ämnen

Potentiellt interfererande ämnen kan komma från olika källor, t.ex. naturliga metaboliter som är specifika för vävnadstypen och organ, metaboliter producerade under patologiska förhållanden, ämnen introducerade under patientbehandling eller ämnen som intagits av patienten. På grund av komplexiteten av potentiella interfererande ämnen och olika känslighet för specifika efterföljande tillämpningar rekommenderar vi att användare bedömer effekten av interfererande ämnen för deras egna system och validerar en metod för att kontrollera interferens i deras specifika diagnostiska efterföljande tillämpning.

Interfererande ämnen från komponenter i RNeasy DSP FFPE Kit under probbearbetning och RNA-extraktion observerades inte.



















Se satshandböcker för mer information om interfererande ämnen i specifika efterföljande QIAGEN-tillämpningar.

## Korskontaminering

För att bedöma nivån av korskontaminering tillsattes 500 ng total RNA från blod till en avparaffinerad lösning och isolerades intill rör som inte innehåller RNA (extraktionsnegativa rör). Studien syftade till att efterlikna situationen där prover som innehåller en hög nivå av RNA-målmolekyler kan korskontaminera andra prover under extraktionsförfarandet. RNA-rening genomfördes med användning av ett parti reagenser. Korskontaminering bedömdes med användning av RT-PCR riktad mot den humana  $\beta$ -aktingenen. Resultaten visade ingen korskontaminering någonstans i systemet.

# Symboler

Nedanstående symboler finns i användningsinstruktionerna eller på förpackningar och etiketter:

Symbol	Symbolförklaring
	Innehåller reagens som räcker till <N> reaktioner
	Utgångsdatum
	Denna produkt uppfyller kraven i den europeiska förordningen 2017/746 för in vitro-diagnostiska medicintekniska enheter.
	In vitro-diagnostisk medicinteknisk enhet
	Vid ankomst
	DN
	RNeasy MinElute Spin
	Katalognummer
	Lotnummer
	Materialnummer (d.v.s. komponentetikett)
	Komponenter (d.v.s. en lista över vad som ingår)
	Innehåller (innehåll)
	Antal (d.v.s. vialer, flaskor)
	GSI-artikelnnummer
Rn	R betyder revidering av bruksanvisningen (handboken) och n är revisionsnumret
	Temperaturbegränsning
	Tillverkare
	Läs bruksanvisningen
	lakttag försiktighet

Symbol	Symbolförklaring
<b>PROTK</b>	Proteinas K
Sodium azide	Natriumazid
<b>UDI</b>	Unik enhetsidentifierare

# Dokumentrevisioner

## Revision

## Beskrivning

R1, juni 2022

IVDR-utgåva

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive handbok eller användarmanual för QIAGEN-satsen. Handböcker och bruksanvisningar för QIAGEN-sats finns på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan beställas från QIAGENS tekniska service eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, RNeasy® (QIAGEN Group), ABI® (Life Technologies Corporation). Registrerade namn, varumärken med mera som används i detta dokument ska inte anses som oskyddade enligt lag, även om de inte uttryckligen anges som skyddade.

06/2022 HB-3027-D01-001 © 2022 QIAGEN, med ensamrätt.



