

# QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue Kit

## 사용 설명서(성능 특징)

버전 2



체외 진단용

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit와 함께 사용함



60404



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 독일

R1

해당 성능 특징은 전자 파일로 제공되며 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)의 해당 제품 페이지 Resources(리소스) 탭에서 확인할 수 있습니다.

## 일반 개론

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit는 실리카 막 기술(QIAamp 기술)을 사용하여 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 생물학적 시료에서 유전체 DNA를 분리 및 정제하는 시스템입니다.

이는 수동 검체 준비를 위해 사용되며 정성적으로든 정량적으로든 검사 결과를 제공하지 않습니다.

# 성능 특징

참고: 성능 특징은 다양한 요인에 따라 크게 달라지며 특정 다운스트림 공정과 관련이 있습니다. 이는 모범 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 포매 조직 유형 및 모범 다운스트림 공정과 함께 QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit에 대해 확립되었습니다. 그러나 핵산을 분리하는 방법은 다른 생물학적 시료와 함께 사용되며 여러 다운스트림 공정을 위한 프런트 엔드로 사용됩니다. 교차 오염 또는 실행 반복성 및 재현성과 같은 성능 매개 변수는 다운스트림 공정 개발의 일부로서 그러한 모든 작업 흐름에 대해 확립되어야 합니다. 따라서 적절한 성능 매개 변수를 확정하기 위해 전체 작업 흐름을 검증하는 것은 사용자의 책임입니다.

## 기본 성능 및 다른 다운스트림 공정에 대한 호환성

### 다운스트림 분석

용출된 유전체 DNA는 다양한 체외 진단 다운스트림 분석을 포함해 여러 다른 다운스트림 분석에 사용할 수 있습니다. 특정 시스템 성능에 대한 자세한 정보는 QIAGEN® 키트 안내서를 참조하십시오.

### 정제된 DNA의 수율

포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 검체는 높은 수준의 조직 이질성을 보일 수 있습니다. 또한, 조직 표면 영역은 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 검체에서 매우 변동적이며, 추출된 DNA 양과 품질의 변동성을 초래합니다. 따라서 사용자는 특정 다운스트림 공정에 적합한 양과 품질의 DNA를 얻기 위해서 실험실에서 사용되는 모든 절차 및 관심 대상 검체에 대해 절편 수, 절편 두께, 절편 표면 영역을 최적화해야 합니다.

키트를 QIAGEN 다운스트림 공정과 함께 사용하는 경우, 관련 안내서에서 지침을 확인하십시오.

전체 정제 과정 동안 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 조직 준비 시 조직을 충분히 탈수하지 않거나, 추출 튜브에 검체와 함께 너무 많은 파라핀을 넣거나, 권장되는 것보다 낮은 순도의 에탄올(분자 생물학 등급이 아닌 것)을 사용하거나, 검체 내 크실렌 또는 에탄올이 함유돼 있으면 최적화되지 않은 추출과 낮은 DNA 양 및 품질로 이어질 수 있습니다.

### 반복성

반복성은 포르말린에 고정되고 파라핀으로 포매된 인간 세포에서 생성된 6개의 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 세포주를 사용하여 평가하였습니다. 검체는 QuantiTect® SYBR® Green 마스터 혼합물 및 β-액틴 유전자 특이적 프라이머와 함께 Rotor-Gene® Q real-time PCR 사이클러로 검사하였습니다. 인간 β-액틴 유전자의 174 bp 단편 및 218 bp 단편에 대해서는 PCR 반응을 수행하였습니다.

통계적 분석을 위해 각 단편 크기에 대해 72개의 데이터 점이 사용되었습니다. 통계적 분석에는 표준편차(Standard Deviation, SD)와 상한 및 하한 95% 신뢰 한계 계산이 포함되었습니다. 편차는 218 bp 단편에 대한 표준 편차로 분산 성분 분석을 사용하여 추정되었습니다(SD: 0.342 CT, 95% 신뢰 하한: 0.291, 95% 신뢰 상한: 0.413). 이는 추출 과정에 대한 반복성 추정치로 사용될 수 있습니다. 174 bp 단편에 대한 추정 편차는 0.258 CT, 95% 신뢰 하한이 0.220, 95% 신뢰 상한이 0.312였습니다.

## 재현성

재현성 평가는 비소세포 폐암(Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC) 조직이 포함된 3개의 임상 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 시료(결실 6223 돌연변이 보유 1개, L858R 돌연변이 보유 1개, 야생형(Wild-Type, WT) 시료 보유 1개)를 사용하여 3개의 실험실에서 수행했습니다. 임상 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 시료는 생어(Sanger) 염기서열 분석에 따라 알려진 돌연변이 상태에 근거하여 선택되었습니다.

각 돌연변이 임상 FFPE 시료에 대해 48개의 순차적 FFPE 절편이 추출에 사용될 쌍으로 무작위 배정되고 검사 부위당 1개씩, 3개의 배치로 구분되었습니다.

추출은 각 검사 기관에서 2회 반복 수행되었습니다. 각 기관에서는 추출을 위해 QIAamp FFPE DNA DSP Kit에서 하나의 고유 로트를 사용했습니다. 검체 평가와 돌연변이 평가는 3개의 기관 모두에서 *therascreen*® EGFR RGQ PCR Kit를 사용해 수행하였습니다. 검체는 6일의 기간에 걸쳐 비연속적인 3일에 검사했습니다. 각 시료는 각 기관에서 6번 검사하였고 이는 시료당 총 18개의 데이터 점을 제공했습니다.

모든 검체에 대해, 세 기관 모두에서 100% 정확한 돌연변이 판정이 입증되었습니다.

## 선형성

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit는 여러 유형의 조직으로부터 DNA를 분리하는 데 사용할 수 있습니다. 선형 범위는 고객 요건에 따라 확립되고 특정 용도에 대해 검증되어야 합니다. 다른 조직 유형에 대해서는 다른 선형 범위가 예상되며, 이는 시스템으로의 조직 로드 및 조직 특성에 따라 다릅니다.

## 간섭 물질

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit는 여러 유형의 조직으로부터 DNA를 분리하는 데 사용할 수 있습니다. 잠재적 간섭 물질은 여러 원인에 기인할 수 있습니다. 예를 들어, 조직 유형 및 장기에 특이적인 천연 대사물질, 병리학적 상태에서 생성되는 대사물질, 환자 치료 중 유입되는 물질 또는 환자가 섭취한 물질 등이 있습니다.

간섭 물질 검사는 추출된 핵산의 품질 평가를 위한 예시 다운스트림 공정과 함께 검체 준비를 위한 QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit를 사용하여 수행되었습니다. 검사를 거친 QIAGEN 키트의 목록이 표 1에 나열되어 있습니다.

그러나 다른 다운스트림 공정은 순도(즉, 잠재적 간섭 물질의 부재)와 관련하여 다른 요구 사항을 가질 수 있으며 특정 검체에 존재하는 간섭 물질은 다양할 수 있습니다. 따라서 관련된 간섭 물질의 식별, 검사, 제어 또한 QIAamp DSP FFPE Tissue Kit 및 특정 다운스트림 공정을 포함하는 특정 진단 작업 흐름의 일부로 확립되어야 합니다.

표 1. 다운스트림 분석 간섭 물질 연구

진단 키트	검사된 간섭 물질	결론
<i>therascreen</i> PIK3CA RGQ PCR Kit	파라핀 왁스 크실렌 에탄올 Buffer ATL 단백분해효소 K Buffer AL Buffer AW1 Buffer AW2 헤모글로빈	5개의 돌연변이 검체(각각 PIK3CA Kit의 분석 항목 중 하나를 대표)와 1개의 야생형(Wild-Type, WT) 검체는 9개의 잠재적 간섭 물질로 스파이크했고, 평균 $\Delta C_t$ 및 돌연변이 판정에 대한 효과를 검사했습니다.  이 연구의 데이터는 검사된 간섭 물질이 사용된 농도에서 돌연변이 또는 야생형(Wild-Type, WT) 검체에 영향을 미치지 않았음을 보여줍니다. 상당한 차이가 관찰된 경우, 이는 분석 항목의 3x 중간 정밀도 이내였고, 따라서 분석 항목의 내재 변동성 이내였습니다.  돌연변이 검체 및 야생형(Wild-Type, WT) 검체 모두에서 모든 돌연변이 판정은 예상 결과와 같았습니다. 이 연구에서 관찰된 데이터는 연구가 허용 기준을 충족했음을 보여 줍니다.
<i>therascreen</i> KRAS RGQ PCR Kit	파라핀 왁스 크실렌 에탄올 Buffer ATL 단백분해효소 K Buffer AL Buffer AW1 Buffer AW2	이 연구는 잠재적 간섭 물질이 KRAS 키트의 성능에 미치는 영향을 평가하기 위해 설계되었습니다.  돌연변이 검체의 경우 목표는 간섭 물질이 있는 검체의 평균 분석 값이 간섭 물질이 없는 검체와 유의미하게 다르지 않음을 입증하는 것이었습니다. 야생형(Wild-Type, WT) 검체의 경우 목표는 간섭 물질의 존재가 위양성 결과를 일으키지 않아야 함을 입증하는 것이었습니다.  위양성 결과를 일으킨 두 가지 분석/간섭 물질의 조합이 있었습니다. 그러나 이들은 크실렌의 수준이 모두 낮았고 높은 수준의 검체에서는 유사한 위양성이 없었습니다.  이 두 가지 목표가 모두 충족되었고, 정상 사용 농도에서 QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit의 물질이 돌연변이 양성 검체와 돌연변이 음성 검체를 구별하는 KRAS 키트의 성능을 저해하지 않는다는 가설을 확인했습니다.
<i>therascreen</i> EGFR RGQ PCR Kit (EGFR Kit)	파라핀 왁스 크실렌 에탄올 Buffer ATL 단백분해효소 K Buffer AW1 Buffer AW2	이 연구의 목적은 추출 과정에 사용된 잠재적 간섭 물질이 QIAGEN Rotor-Gene Q MDx platform(RGQ)에서 사용될 때 <i>therascreen</i> EGFR RGQ PCR Kit(EGFR Kit)의 성능에 미치는 영향을 확인하는 것이었습니다.  7개의 EGFR 돌연변이 분석과 1개의 야생형(Wild-Type, WT) 각각을 대표하는 8개의 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 표준 검체가 이 연구를 위해 선택되었습니다.  두 수준의 간섭 물질 각각과 "공백" 복제물 간의 돌연변이 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 표준 각각에 대한 평균 $\Delta C_t$ 값의 추정된 차이는 0과 크게 다르지 않거나 1 $C_t$ 미만의 값으로 작은 것으로 간주되었습니다.  모든 돌연변이 복제물은 모든 간섭 물질에 대해 간섭 물질의 저수준 및 고수준 각각에서 검출된 돌연변이의 돌연변이 판정을 가졌습니다. 모든 야생형(Wild-Type, WT) 복제물은 모든 간섭 물질에 대해 간섭 물질의 저수준 및 고수준 각각에서 검출되지 않은 돌연변이의 검체 돌연변이 상태를 가졌습니다.  연구 결과 FFPE Extraction Kit에 사용된 시약은 EGFR Kit의 성능에 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었습니다.
<i>therascreen</i> KRAS RGQ PCR NSCLC Kit	파라핀 왁스 크실렌 에탄올 Buffer ATL Buffer AL Buffer AW1 Buffer AW2 Buffer ATE	이 연구는 잠재적 간섭 물질(QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit(포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 추출 키트)에서의 존재가 KRAS 시스템 NSCLC 키트에 대해 위양성 또는 위음성 결과를 만들지 않음을 입증하기 위해 설계되었습니다. 즉, 돌연변이 판정이 영향을 받거나 또는 무효 검체 상태를 만들어 시스템에 "안전 장치"를 생성합니다.  DNA 추출 과정에서 8개의 잠재적 간섭 물질이 확인되었습니다. 각 물질은 8개의 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 세포주와 야생형(Wild-Type, WT) 검체에 대해 검사되었으며, KRAS Kit NSCLC Kit로 검출된 7개의 돌연변이 각각을 대표했습니다. 돌연변이 검체는 검출 한계(3 x LOD)의 약 3배에 해당하는 수준에서 검사했습니다.  이 연구는 검사된 물질이 간섭 물질 1x 수준에서 분석 성능에 어떠한 부정적인 영향도 미치지 않았으며, 항상 올바른 돌연변이 판정이 제공됐고, 간섭 물질이 검사된 조건의 검체 대부분(58/64 조건, 1x 수준)에 대해 $\Delta C_t$ 차이에 통계적으로 유의미한 영향을 미치지 않았음을 입증했습니다. 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않은 6개 검체의 경우, 각 검체에 대한 평균에서 관찰된 차이가 연구 허용 기준인 $\pm 2 \times SD$ (반복성 및 재현성 연구 보고에서 획득한 SD 추정치) 내에 있었습니다.  이 연구는 또한 분석이 예상 캐리 오버보다 더 높은 수준의 각 물질에 대해 내성이 있음을 입증했습니다. 즉, 간섭 물질 최고 예상 농도 10x일 때 올바른 돌연변이 판정이 제공되었습니다.

특정 QIAGEN 다운스트림 공정에서의 간섭 물질에 대한 더 자세한 정보는 키트 안내서를 참조하십시오.

## 교차 오염

교차 오염의 수준을 평가하기 위해 2개의 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 세포주 NSCLC 검체, 야생형(Wild-Type, WT) 및 엑손 21 L858R 돌연변이를 보유한 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 세포주를 사용했습니다. 이 검사는 높은 수준의 돌연변이를 포함하는 검체가 추출 과정에서 다른 검체와 교차 오염을 일으킬 수 있는 상황을 모방하는 것을 목표로 했습니다. 시약 로트 중 하나를 사용하여 야생형(Wild-Type, WT) 검체 옆에 위치한 L858R 돌연변이 검체에서 DNA를 정제함으로써 추출 과정을 테스트하기 위한 DNA 정제를 수행했습니다. 교차 오염은 *therascreen* EGFR RGQ PCR Kit를 사용하여 평가하였습니다. 전체 시스템에서 교차 오염이 없다는 결과가 나왔습니다.

## Pyrosequencing® 및 qPCR 기반 분석에서 QIAamp DSP DNA FFPE DNA 용출액 성능

*Therascreen* EGFR Pyro 분석을 사용한 분석을 위해 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 조직으로부터 분리된 DNA를 DNA 농축액 2 ng/μl로 희석했습니다. 성능 특징을 결정하기 위해 이용된 모든 실행에서, 모든 코돈에 대해 신호가 30 RLU(relative light units, 상대적 발광 단위)를 초과하였고 모든 검체에서 돌연변이 분석에 대한 정확한 의학적 결과가 나타났습니다.

결장직장암, 비소세포폐암, 유방암 환자의 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 조직으로부터 분리된 DNA를 *therascreen* KRAS RGQ PCR Kit, *therascreen* EGFR RGQ PCR Kit, KRAS RGQ PCR NSCLC Kit 및 *therascreen* PIK3CA RGQ PCR Kit에 직접 사용했습니다. QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit를 사용하여 추출한 DNA의 Ct 값은 각 분석에 대해 정의되고 각 안내서에 자세히 설명된 작업 범위 매개 변수 내에 있었습니다.





## 용출액 안정성

용출액 안정성은 공동 정제 불순물(조직 유형과 관련됨)의 함량과 유형, 용출량, 보관 조건에 따라 다릅니다. 사용자가 특정 요건에 따라 용출액 안정성을 확립할 것을 권장합니다.

키트를 QIAGEN 다운스트림 공정과 함께 사용하는 경우, 관련 키트 안내서에서 지침을 확인하십시오. 예시 안정성 검증 연구에 따르면 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 조직 검체에서 추출한 DNA는 4°C에서 최대 7일 동안 보관하고 추가로 -20°C에서 최대 총 5주 동안 여러 번의 동결-해동 사이클로 보관할 때 *therascreen* KRAS RGQ PCR Kit에 사용하기에 적합하다는 것이 입증되었습니다.

## 기호

이 문서에는 다음 기호가 있습니다. 사용 설명서 또는 포장물 및 라벨에 사용된 기호의 전체 목록은 안내서를 참조하십시오.

기호	기호 정의
	이 제품은 체외 진단 의료 기기에 대한 유럽 규정 2017/746의 요구 사항을 충족합니다.
	체외 진단용 의료 기기
	카탈로그 번호
<b>Rn</b>	R은 사용 설명서의 개정 버전을 나타내며, n은 개정 번호입니다
	제조업체

## 개정 이력

개정	설명
R1, 2022년 6월	버전 2, 개정 1 <ul style="list-style-type: none"><li>IVDR 준수를 위해 버전 2로 업데이트</li><li>간섭 물질, 교차 오염, 용출액 안정성 및 다운스트림 공정에 대한 호환성 섹션 추가</li></ul>

최신 라이선스 정보 및 제품별 면책 사항은 각 QIAGEN 키트 안내서 또는 사용 설명서를 참조하십시오. QIAGEN 키트 안내서와 사용자 설명서는 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)에서 확인하거나 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 배포자가 요청할 수 있습니다.

상표: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, Pyrosequencing®, QuantiTect®, Rotor-Gene®, iTherascreeen®(QIAGEN 그룹); SYBR®(Life Technologies Corporation). 이 문서에 사용된 등록된 이름, 상표 등은 별도로 표시되지 않은 경우에도 법적 보호를 받는 것으로 간주됩니다.

06/2022 HB-3033-D01-001 © 2022 QIAGEN, 모든 권리 보유.



