

Petunjuk Penggunaan QIAamp[®] DSP DNA FFPE Tissue Kit (Buku Pegangan)



Versi 2

IVD

Untuk Penggunaan Diagnostik In Vitro

Untuk digunakan dengan QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit

CE

Nomor katalog

REF

60404



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, JERMAN

R2 **MAT**

1130780ID

Isi

Tujuan Penggunaan	4
Pengguna yang Dimaksudkan	4
Deskripsi dan Prinsip.....	5
Rangkuman dan penjelasan.....	5
Prinsip Prosedur	5
Bahan yang Disediakan	7
Isi kit.....	7
Komponen kit.....	8
Bahan yang Diperlukan tetapi Tidak Disediakan	9
Reagen tambahan	9
Bahan Habis Pakai.....	9
Peralatan.....	9
Peringatan dan Pencegahan	10
Informasi keselamatan	10
Informasi darurat.....	11
Tindakan pencegahan	11
Item Sekali Pakai.....	12
Penyimpanan dan Penanganan Reagen	13
Stabilitas saat penggunaan	13
Penyimpanan dan Penanganan Spesimen	14
Prosedur	15
Protokol: Isolasi DNA Genomik dari Tampang Jaringan FFPE.....	21

Pengendalian Mutu	25
Batasan	26
Karakteristik Kinerja	27
Panduan Pemecahan Masalah	28
Simbol.....	29
Apendiks: Penanganan	32
Informasi Pemesanan	33
Riwayat Revisi Dokumen.....	34

Tujuan Penggunaan

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit adalah sistem yang menggunakan teknologi membran silika (teknologi QIAamp) untuk mengisolasi dan memurnikan DNA genomik dari spesimen biologis yang terfiksasi formalin dan tertanam dalam parafin (Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE).

Kit ini ditujukan untuk penyiapan sampel manual dan tidak memberikan hasil pengujian, kualitatif maupun kuantitatif.

Pengguna yang Dimaksudkan

Produk ini ditujukan untuk digunakan oleh pengguna profesional, seperti teknisi dan dokter yang terlatih dalam teknik biologi molekuler untuk tujuan diagnostik in vitro (In Vitro Diagnostic, IVD).

Deskripsi dan Prinsip

Rangkuman dan penjelasan

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit digunakan untuk pemurnian DNA dari tampang jaringan FFPE. Produk ini menggunakan mikroteknologi QIAamp DNA terkemuka untuk pemurnian DNA mitokondrial dan genomik dari ukuran atau volume sampel yang kecil. Kit ini menggabungkan beberapa properti pengikat terpilih dari membran berbasis silika dengan volume elusi yang fleksibel.

Kondisi lisis memungkinkan DNA genomik untuk dimurnikan secara efisien dari tampang jaringan FFPE tanpa perlu inkubasi selama semalaman. Inkubasi pada suhu yang ditingkatkan setelah pencernaan Proteinase K menghilangkan tautan silang formalin dari DNA yang dirilis, berpotensi meningkatkan hasil, serta kinerja DNA dalam uji kadar hilir. Perhatikan bahwa DNA yang diisolasi dari sampel FFPE biasanya memiliki berat molekuler lebih rendah dibandingkan DNA dari sampel segar atau beku. Derajat fragmentasi bergantung pada tipe dan usia sampel dan kondisi yang digunakan untuk fiksasi.

Setelah lisis sampel, prosedur QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit sederhana disesuaikan untuk pemrosesan beberapa sampel secara bersamaan.

Pengguna bertanggung jawab untuk memvalidasi kinerja sistem untuk setiap prosedur yang digunakan di laboratorium mereka yang tidak dicakup oleh studi kinerja QIAGEN® yang dijelaskan dalam buku pegangan.

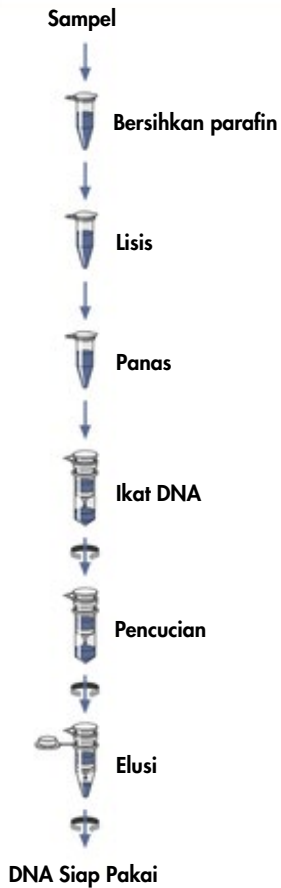
Prinsip Prosedur

Prosedur QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit terdiri dari 6 langkah (Gambar 1):

- Pembersihan parafin: Parafin dilarutkan dalam xilena dan dihilangkan.
- Lisis: Sampel dilisis pada suhu 56 °C dalam kondisi denaturisasi dengan Proteinase K.

- Panas: Inkubasi pada suhu 90 °C membalikkan tautan silang formalin.
- Ikat: DNA terikat ke membran dan aliran kontaminan.
- Pencucian: Kontaminan residu terbilas.
- Elusi: DNA murni yang terkonsentrasi dielusi dari membran.

Prosedur QIAamp DSP DNA FFPE Tissue




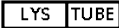

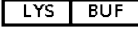







Gambar 1. Prosedur QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit.

Bahan yang Disediakan

Isi kit

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit	(50)
No. katalog	60404
Jumlah penyiapan	50

	Identitas	Simbol	Kuantitas
QIAamp MinElute®	QIAamp MinElute Columns with Wash Tubes (Kolom QIAamp MinElute dengan Tabung Pencucian)		50
WT	Wash Tubes (Tabung Pencucian) (2 ml)		3 x 50
ET	Elution Tubes (Tabung Elusi) (1,5 ml)		50
LT	Lysis Tubes (Tabung Lisis) (2 ml)		50
ATL	Tissue Lysis Buffer (Dapar Lisis Jaringan)		10 ml
AL	Lysis Buffer (Dapar Lisis)*		12 ml
AW1	Wash Buffer 1 (Dapar Pencucian 1)* (konsentrat)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (Dapar Pencucian 2)† (konsentrat)		13 ml
ATE	Elution Buffer (Dapar Elusi)†		12 ml
PK	Proteinase K		1,25 ml
-	Petunjuk Penggunaan (Buku Pegangan)		1

* Mengandung garam guanidina. Tidak kompatibel dengan disinfektan yang mengandung pemutih. Lihat halaman 10 untuk Peringatan dan Pencegahan.

† Mengandung natrium azida sebagai pengawet.

Komponen kit

Komponen utama kit dijelaskan di bawah.

Tabel 1. Bahan aktif dalam reagen yang disediakan

Reagen		Bahan Aktif	Konsentrasi (w/w) [%]
Simbol	Nama		
ATL	Buffer ATL	Natrium dodesil sulfat	≥ 1 hingga < 10
AL	Buffer AL	Guanidina hidroklorida Asam maleat	> 30 hingga < 50 $\geq 0,1$ hingga < 1
AW1	Buffer AW1	Guanidina hidroklorida Etanol	≥ 50 hingga < 70 ≥ 10 hingga < 90
AW2	Buffer AW2	Etanol	≥ 10 hingga < 90
ATE	Buffer ATE	Tidak ada	-
PK	Proteinase K	Proteinase K	≥ 1 hingga < 10

Untuk meminimalkan risiko setiap dampak negatif hasil diagnostik yang dihasilkan setelah isolasi DNA, kendali yang memadai untuk penggunaan hilir harus digunakan.

Bahan yang Diperlukan tetapi Tidak Disediakan

Saat bekerja dengan bahan kimia, selalu kenakan jas lab yang sesuai, sarung tangan sekali pakai, dan kacamata pelindung. Untuk informasi selengkapnya, baca lembar data keselamatan (Safety Data Sheets, SDS) yang sesuai, tersedia dari pemasok produk.

Reagen tambahan

- Xilena
- Etanol (96–100%)*

Bahan Habis Pakai

- Jika diputuskan untuk tidak menggunakan tabung yang disediakan dalam kit, kami merekomendasikan tabung mikrosentrifugasi 1,5 atau 2 mL (untuk langkah lisis) dan tabung mikrosentrifugasi 1,5 mL (untuk langkah elusi) (misalnya, yang tersedia dari Sarstedt®, no. kat. 72.690). Kami merekomendasikan tabung berbentuk kerucut bebas RNase/DNase dengan penutup yang aman. Pengguna bertanggung jawab untuk memvalidasi kinerja sistem bagi setiap prosedur yang digunakan dalam laboratorium mereka, yang tidak dicakup oleh studi kinerja QIAGEN.
- Pipet dan ujung pipet (untuk menghindari kontaminasi silang, kami sangat merekomendasikan ujung pipet dengan penghalang aerosol)

Peralatan†

- Thermomixer‡, inkubator orbital berpemanas, blok pemanas, atau penangas air yang mampu melakukan inkubasi pada suhu 56 °C, 70 °C, dan 90 °C
- Mikrosentrifugasi† dengan rotor untuk tabung 2 ml
- Vortexer

* Jangan gunakan alkohol denaturasi, yang mengandung bahan lain seperti metanol atau metiletilketon.

† Sebelum digunakan, pastikan instrumen telah diperiksa dan dikalibrasi sesuai dengan rekomendasi produsen.

‡ Untuk memastikan sampel diproses dengan benar dalam prosedur QIAamp DSP DNA FFPE, kami sangat menyarankan instrumen dikalibrasi sesuai dengan rekomendasi produsen.

Peringatan dan Pencegahan

Berdasarkan manajemen risiko QIAGEN, semua tindakan kendali risiko yang ditujukan diimplementasikan dalam desain produk. Risiko residu keseluruhan dinilai dapat diterima dan penggunaan perangkat dinilai aman. Buku pegangan ini mengandung petunjuk, peringatan, dan tindakan pencegahan guna memastikan keselamatan dan kinerja perangkat. Buku pegangan harus diikuti secara ketat.

Perlu diketahui bahwa Anda mungkin diwajibkan untuk berkonsultasi dengan peraturan lokal Anda untuk melaporkan insiden serius yang terjadi sehubungan dengan perangkat pada produsen dan/perwakilan resmi dan otoritas regulasi tempat pengguna dan/atau pasien berada.

Informasi keselamatan

Saat bekerja dengan bahan kimia, selalu kenakan jas lab yang sesuai, sarung tangan sekali pakai, dan kacamata pelindung. Untuk informasi lebih lanjut, periksalah lembar data keselamatan (Safety Data Sheets, SDS) yang sesuai. Panduan tersedia online dalam format PDF yang mudah dan praktis di www.qiagen.com/safety, di mana Anda dapat menemukan, melihat, dan mencetak SDS untuk setiap kit dan komponen kit QIAGEN.

PERHATIAN JANGAN menambahkan pemutih atau larutan asam secara langsung ke limbah penyiapan sampel.



- Buffer AL dan Buffer AW1 mengandung guanidina hidroklorida, yang dapat menghasilkan senyawa yang sangat reaktif saat dicampur dengan pemutih.
- Jika cairan yang mengandung larutan dapar ini tumpah, bersihkan dengan detergen laboratorium yang sesuai dan air. Jika cairan yang tumpah mengandung zat yang berpotensi menyebabkan infeksi, bersihkan area yang terkena terlebih dahulu dengan detergen laboratorium dan air, dan kemudian dengan 1% (v/v) natrium hipoklorit.
- Spesimen dan sampel berpotensi menyebabkan infeksi. Buang limbah sampel dan uji kadar sesuai dengan prosedur keselamatan setempat.

Informasi darurat

CHEMTREC

AS & Kanada 1-800-424-9300

Luar AS & Kanada +1 703-527-3887

Tindakan pencegahan

Buffer AL



Mengandung: guanidina hidroklorida dan asam maleat. Peringatan! Dapat berbahaya jika tertelan atau terhirup. Menyebabkan iritasi kulit. Menyebabkan iritasi mata serius. Dapat menyebabkan reaksi alergi terhadap kulit. Jika iritasi mata tetap terjadi: Dapatkan saran/perawatan medis. JIKA TERKENA MATA: Bilas secara hati-hati dengan air selama beberapa menit. Lepaskan lensa kontak, jika ada dan mudah dilakukan. Lanjutkan membilas. Lepaskan pakaian yang terkontaminasi dan cuci sebelum dikenakan kembali. JIKA TERKENA KULIT: Cuci dengan sabun dan air mengalir. Jika terjadi iritasi kulit: Dapatkan saran/perawatan medis. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah.

Buffer ATL



Peringatan! Menyebabkan iritasi kulit ringan. Jika terjadi iritasi kulit: Dapatkan saran/perawatan medis.

Buffer AW1



Mengandung: guanidina hidroklorida. Peringatan! Berbahaya jika tertelan atau terhirup. Menyebabkan iritasi kulit. Menyebabkan iritasi mata serius. Hubungi PUSAT BANTUAN KERACUNAN atau dokter/medis jika Anda merasa kurang baik. Buang isi/wadah ke tempat pembuangan limbah yang disetujui. Lepaskan pakaian yang terkontaminasi dan cuci sebelum dikenakan kembali. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah.

Proteinase K



Mengandung: Proteinase K. Bahaya! Menyebabkan iritasi kulit ringan. Dapat menyebabkan gejala alergi atau asma maupun kesulitan bernapas jika terhirup. Hindari menghirup debu/asap/gas/kabut/uap/semprotan. Buang isi/wadah ke tempat pembuangan limbah yang disetujui. Jika mengalami gejala pernapasan: Hubungi PUSAT BANTUAN KERACUNAN atau dokter/medis. JIKA TERHIRUP: Jika sulit bernapas, bawa korban ke udara terbuka dan posisikan tubuh sehingga nyaman untuk bernapas. Kenakan perlindungan pernapasan.

Item Sekali Pakai

Limbah tersebut mengandung sampel dan reagen. Limbah tersebut dapat mengandung bahan beracun atau infeksius, dan harus dibuang dengan benar. Lihat peraturan keselamatan setempat untuk prosedur pembuangan yang tepat.

Untuk informasi lebih lanjut, periksalah lembar data keselamatan (Safety Data Sheets, SDS) yang sesuai. Lembar data keselamatan ini tersedia secara online dalam format PDF di www.qiagen.com/safety tempat Anda dapat menemukan, melihat, dan mencetak SDS untuk setiap komponen kit dan komponen QIAGEN.

Penyimpanan dan Penanganan Reagen

Kolom QIAamp MinElute harus disimpan pada suhu 2–8 °C setelah tiba dan dapat digunakan hingga tanggal kedaluwarsa yang tertera pada kotak kit.

Semua dapar dapat disimpan pada suhu ruang (15–25 °C) dan stabil hingga tanggal kedaluwarsa kit, jika belum dibuka.

Stabilitas saat penggunaan

Buffer AW1 dan AW2 yang disusun kembali dapat disimpan pada suhu ruang (15–25 °C) selama maksimum satu tahun, atau hingga tanggal kedaluwarsa untuk kit mana pun yang terjadi lebih dulu.

Penyimpanan dan Penanganan Spesimen

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit telah dikembangkan untuk digunakan dengan spesimen FFPE.

Stabilitas DNA tergantung pada berbagai faktor seperti pengumpulan spesimen, penanganan, penyiapan, dan kondisi penyimpanan yang dapat memengaruhi penggunaannya dalam aplikasi hilir. Penting untuk membaca petunjuk penggunaan dari aplikasi hilir tertentu dan/atau memverifikasi dan memvalidasi alur kerja keseluruhan untuk menciptakan kondisi yang sesuai.

Untuk informasi umum tentang prosedur laboratorium untuk pengumpulan, penanganan, penyiapan, dan kondisi penyimpanan spesimen FFPE, lihat ISO 20166-3:2018 “Pemeriksaan diagnostik molekuler in vitro — Spesifikasi untuk proses pra-pemeriksaan jaringan terfiksasi formalin dan tertanam dalam parafin (Formalin-Fixed and Paraffin-Embedded, FFPE) — Bagian 3: DNA yang Diisolasi” dan CLSI MM13-A “Pengumpulan, Pengangkutan, Penyiapan, dan Penyimpanan Spesimen untuk Metode Molekuler; Pedoman yang Disetujui”.

DNA dielusi dalam Buffer ATE dan langsung siap dipakai dalam reaksi amplifikasi atau untuk disimpan (kondisi bergantung pada persyaratan pengguna). Lihat buku pegangan kit terkait untuk kondisi penyimpanan yang direkomendasikan untuk aplikasi hilir QIAGEN tertentu.

Prosedur

Poin penting sebelum memulai

- Semua reagen yang disediakan dalam QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit ditujukan untuk digunakan hanya dengan reagen lain dalam QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit. Substitusi terhadap reagen dalam kit tidak boleh dilakukan jika akan menjaga kinerja yang optimal.
- Setelah menerima kit, periksa komponen kit untuk melihat kerusakan. Apabila kemasan atau botol دچار rusak, hubungi Layanan Teknis QIAGEN atau distributor setempat Anda. Apabila terjadi tumpahan cairan, bacalah “Peringatan dan Pencegahan”, halaman 10). Jangan menggunakan komponen kit yang rusak, sebab dapat mengakibatkan kinerja kit yang buruk.
- Jangan menggunakan komponen kit dari kit lain dengan kit yang sedang Anda gunakan, kecuali jika nomor lotnya sama.
- Hindari kontaminasi mikroba dari reagen kit.
- Kit ini hanya boleh digunakan oleh personel yang terlatih dalam praktik laboratorium diagnostik in vitro.
- Selalu kenakan sarung tangan vinil atau lateks saat menangani reagen dan sampel untuk mencegah kontaminasi dari permukaan kulit atau dari peralatan laboratorium yang berdebu. Tangan dan partikel debu dapat membawa bakteri dan jamur dan merupakan sumber umum kontaminasi. Seringlah mengganti sarung tangan dan selalu tutup tabung.
- Sisa دچار, aliran, dan sampel yang tidak terpakai harus dibuang sesuai dengan prosedur setempat.
- Jika menggunakan perangkat plastik Anda sendiri, penggunaan tabung kerucut 1,5–2 ml polipropilena sekali pakai, pengikatan rendah bebas RNase/DNase dengan penutup yang aman direkomendasikan selama prosedur pemurnian.
- Lakukan semua tahap sentrifugasi pada suhu ruang (15–25 °C).
- Semua دچار harus disimpan pada suhu ruang (15–25 °C) dan harus tercampur secara merata sebelum digunakan.

- Atur thermomixer atau inkubator orbital berpemanas ke suhu 56 °C untuk digunakan di tahap 9. Jika thermomixer atau inkubator orbital berpemanas tidak tersedia, blok pemanas atau penangas air dapat digunakan sebagai gantinya.
- Jika Buffer AL atau Buffer ATL mengandung endapan, larutkan dengan memanaskan hingga suhu 70 °C dengan agitasi lembut.
- Pastikan Buffer AW1 dan Buffer AW2 telah disiapkan sesuai dengan petunjuk di bawah.
- Prosedur kendali mutu pada QIAGEN menggunakan pengujian perilsan kit fungsional untuk setiap lot kit individu. Oleh karena itu, jangan mencampur reagen dari lot kit yang berbeda, dan jangan menggabungkan reagen individu dari lot reagen lain.

Penyiapan dapar

Menyiapkan Buffer ATL

- Sebelum memulai prosedur, periksa apakah terbentuk endapan dalam Buffer ATL. Bila perlu, larutkan dengan memanaskannya hingga suhu 70 °C dengan agitasi lembut.

Menyiapkan Buffer AL

- Sebelum memulai prosedur, periksa apakah terbentuk endapan dalam Buffer AL. Bila perlu, larutkan dengan memanaskannya hingga suhu 70 °C dengan agitasi lembut.

Menyiapkan Buffer AW1

- Tambahkan 25 ml etanol (96–100%)* ke botol yang berisi 19 ml Buffer AW1 terkonsentrasi. Centang kotak centang pada label botol untuk tanda bahwa etanol telah ditambahkan. Buffer AW1 yang disusun kembali dapat disimpan pada suhu ruang (15–25 °C) selama maksimum 1 tahun atau hingga tanggal kedaluwarsa kit, mana pun yang terjadi lebih dulu. Kami menyarankan untuk mencatat tanggal penyusunan ulang pada label dapar.

Catatan: Sebelum memulai prosedur, campurkan Buffer AW1 yang disusun ulang dengan mengocoknya.

Menyiapkan Buffer AW2

- Tambahkan 30 ml etanol (96–100%)* ke botol yang berisi 13 ml Buffer AW2 terkonsentrasi. Centang kotak centang pada label botol untuk tanda bahwa etanol telah ditambahkan. Buffer AW2 yang disusun kembali dapat disimpan pada suhu ruang (15–25 °C) selama maksimum 1 tahun atau hingga tanggal kedaluwarsa pada kit, mana pun yang terjadi lebih dulu. Kami menyarankan untuk mencatat tanggal penyusunan ulang pada label dapar.

Catatan: Sebelum memulai prosedur, campurkan Buffer AW2 yang disusun ulang dengan mengocoknya.

Materi awal

Materi awal untuk pemurnian DNA adalah tampang potongan jaringan FFPE (idealnya yang baru dipotong). Beberapa tampang dapat dikombinasikan dalam 1 penyiapan. Jika Anda tidak memiliki informasi tentang sifat materi awal Anda, kami merekomendasikan untuk memulai dengan maksimum 3 tampang per penyiapan.

* Jangan gunakan alkohol denaturasi, yang mengandung bahan lain seperti metanol atau metiletiketon.

Pengguna harus mengoptimalkan jumlah tampang, ketebalan tampang, dan luas permukaan tampang untuk setiap prosedur yang digunakan dalam laboratoriumnya. Jika kit digunakan berkaitan dengan aplikasi hilir QIAGEN, lihat buku pegangan terkait untuk petunjuk.

Prosedur penanganan untuk menghindari kontaminasi silang

Karena sensitivitas teknologi amplifikasi asam nukleat, tindakan pencegahan berikut diperlukan saat menangani kolom QIAamp MinElute untuk menghindari kontaminasi silang antara sampel:

- Hindari tabung meluap dengan jaringan.
- Ganti pisau bedah di antara sampel saat mengikis jaringan.
- Masukkan sampel atau larutan dengan hati-hati ke kolom putar QIAamp MinElute. Pipet sampel ke dalam kolom QIAamp MinElute tanpa membasahi tepian kolom.
- Selalu ganti ujung pipet di antara transfer cairan. Kami menyarankan penggunaan ujung pipet dengan penghalang aerosol.
- Selalu gunakan tabung pencucian baru saat melakukan langkah pencucian sampel.
- Pastikan penutup tabung tertutup seluruhnya sebelum proses vorteks dan sentrifugasi.
- Pastikan kolom QIAamp MinElute tertutup seluruhnya sebelum proses sentrifugasi.
- Setelah semua langkah vorteks denyut dan langkah inkubasi 90 °C, lakukan sentrifugasi sejenak pada tabung sentrifugasi mikro untuk menghilangkan tetesan dari bagian dalam penutup.
- Hanya buka 1 kolom QIAamp MinElute dalam satu waktu dan berhati-hatilah agar tidak menghasilkan aerosol.
- Selalu ganti pisau bedah di antara sampel.
- Selalu ganti ujung pipet di antara transfer cairan. Untuk meminimalkan kontaminasi silang, kami menyarankan penggunaan ujung pipet dengan penghalang aerosol dan hindari penggunaan pipet multilangkah.
- Selalu kenakan sarung tangan sekali pakai dan periksa secara berkala jika sarung tangan kemungkinan terkontaminasi oleh materi sampel. Buang sarung tangan jika Anda menduga telah terkontaminasi.
- Buka tabung satu per satu.

Sentrifugasi

Kolom QIAamp MinElute akan pas dalam tabung mikrosentrifugasi 1,5–2 ml paling standar. Sentrifugasi kolom QIAamp MinElute dilakukan pada sekitar 6000 x *g* untuk mengurangi derau sentrifugasi. Sentrifugasi pada kecepatan penuh tidak akan meningkatkan hasil DNA. Akan tetapi, sentrifugasi QIAamp MinElute pada kecepatan penuh diperlukan dalam 2 langkah prosedur: langkah sentrifugasi kering setelah membran tercuci dan langkah elusi. Sentrifugasi pada kecepatan penuh juga diperlukan untuk menurunkan sampel setelah perlakuan xilena dan langkah pencucian etanol.

Semua langkah sentrifugasi harus dilakukan dalam suhu ruang (15–25 °C). Suhu sentrifugasi rendah dapat menyebabkan ekstraksi suboptimal.

Pemrosesan kolom QIAamp MinElute dalam alat mikrosentrifugasi

- Selalu tutup kolom QIAamp MinElute sebelum meletakkannya dalam alat mikrosentrifugasi.
- Hindari menyentuh membran kolom QIAamp MinElute dengan ujung pipet.
- Fraksi aliran dapat mengandung limbah berbahaya dan harus dibuang dengan benar.
- Agar pemrosesan paralel beberapa sampel efisien, kami merekomendasikan untuk mengisi rak dengan tabung pencucian di mana kolom QIAamp MinElute dapat ditransfer setelah proses sentrifugasi. Tabung pencucian terpakai yang berisi aliran dapat dibuang, dan tabung pencucian baru yang berisi kolom QIAamp MinElute dapat diletakkan secara langsung dalam alat mikrosentrifugasi.
- Pastikan keterlacakan sampel penuh terjaga di sepanjang proses.

Mengelusi DNA yang dimurnikan

Untuk aplikasi hilir yang memerlukan volume awal yang sedikit (misalnya, beberapa uji kadar PCR), eluat yang lebih terkonsentrasi dapat meningkatkan sensitivitas uji kadar namun juga dapat mengakibatkan peningkatan dalam konsentrasi potensi inhibitor.

Peningkatan dalam volume elusi akan menurunkan konsentrasi DNA dalam eluat.

Volume eluat yang dipulihkan dapat berkisar 5 μ l lebih sedikit dari volume Buffer ATE yang dimasukkan pada kolom QIAamp MinElute. Sebagai contoh, volume elusi sebesar 20 μ l menghasilkan ≥ 15 μ l eluat. Volume eluat yang dapat diambil tergantung pada sifat sampel.

Merupakan tanggung jawab pengguna untuk mengoptimalkan volume elusi untuk setiap prosedur yang digunakan dalam laboratoriumnya. Lihat buku pegangan kit untuk volume elusi yang direkomendasikan untuk aplikasi hilir QIAGEN tertentu.

Hasil dapat meningkat jika kolom diinkubasi dengan Buffer ATE pada suhu ruang selama, misalnya, 5 menit sebelum sentrifugasi. DNA yang dielusi dapat ditampung dalam tabung elusi 1,5 ml (disediakan). Kondisi penyimpanan DNA yang dielusi bergantung pada persyaratan yang ditentukan pengguna. Lihat buku pegangan kit untuk kondisi penyimpanan yang direkomendasikan untuk aplikasi hilir QIAGEN tertentu.

Protokol: Isolasi DNA Genomik dari Tampang Jaringan FFPE

Prosedur

1. Dengan pisau bedah, potong lebih parafin dari blok sampel.
2. Potong tampang dengan mengikuti praktik laboratorium standar (lihat “Materi awal”, halaman 17). Pengguna harus mengoptimalkan jumlah tampang, ketebalan tampang, dan luas permukaan tampang untuk setiap prosedur yang digunakan dalam laboratoriumnya. Pastikan keterlacakan sampel terjaga di seluruh prosedur.
3. Segera kikis jaringan dari tampang menggunakan pisau bedah steril dalam Tabung Lisis (disediakan). Pastikan semua jaringan yang tersedia diletakkan dalam tabung. Tambahkan 1 mL xilena pada sampel, tutup penutupnya, dan vorteks dengan kuat hingga parafin larut (misalnya 10 detik). Pastikan tabung benar-benar tertutup untuk menghindari tumpahnya xilena, kontaminasi silang antara sampel, dan kemungkinan kontak dengan xilena.

Catatan: Gunakan xilena dalam kap asap atau peralatan penahanan (containment apparatus) lain yang sesuai.

4. Sentrifugasi pada kecepatan penuh selama sekitar 2 menit pada suhu ruang untuk mengumpulkan pelet jaringan. Jika pelet jaringan tidak terbentuk ulang langkah ini.

Catatan: Suhu sentrifugasi rendah dapat menyebabkan ekstraksi suboptimal.

5. Bersihkan dan buang supernatan menggunakan pipet. Biarkan peletnya.

Supernatan mengandung xilena, yang merupakan limbah berbahaya dan harus dibuang dengan benar sesuai dengan peraturan setempat.

6. Tambahkan 1 ml etanol (96–100%) pada jaringan pelet, dan campurkan secara merata dengan proses vorteks.

Etanol mengekstrak xilena residu dari sampel dan harus dibuang dengan benar.

7. Sentrifugasi dengan kecepatan penuh selama sekitar 2 menit pada suhu ruang.

Bersihkan supernatan secara hati-hati menggunakan pipet. Jangan membuang pelet.

Buang setiap etanol residu secara hati-hati dengan ujung pipet halus. Buka tabung dan inkubasi pada suhu 15–40 °C, hingga semua etanol residu menguap. Pembersihan etanol residu penting demi keberhasilan ekstraksi.

Catatan: Suhu inkubasi yang rendah memperlambat waktu penguapan, sedangkan suhu tinggi dapat mengeringkan pelet secara berlebihan sehingga sulit untuk disuspensi.

8. Suspensi ulang pelet dalam 180 µl Buffer ATL. Tambahkan 20 µl Proteinase K, dan campurkan melalui proses vorteks.

Catatan: Pelet harus disuspensi ulang dengan baik dalam dapar ATL untuk memastikan pemulihan hasil maksimum.

9. Inkubasi pada suhu 56 °C selama sekitar 1 jam (hingga sampel terlisis sepenuhnya).

10. Inkubasi pada suhu 90 °C selama 1 jam.

Inkubasi pada suhu 90 °C dalam Buffer ATL sebagian membalikkan modifikasi formaldehida pada asam nukleat. Waktu inkubasi yang singkat atau suhu inkubasi yang rendah dapat berdampak pada kualitas dan kuantitas DNA. Jika hanya menggunakan 1 blok pemanas, biarkan sampel pada suhu ruang setelah inkubasi 56 °C hingga blok pemanas telah mencapai 90 °C.

11. Sentrifugasi sekejap tabung untuk menghilangkan tetesan dari bagian dalam penutup.

12. Tambahkan 200 µl Buffer AL pada sampel, dan campurkan secara merata melalui proses vorteks. Kemudian, tambahkan 200 µl etanol (96–100%) dan campurkan kembali secara merata melalui proses vorteks.

Penting agar sampel, Buffer AL, dan etanol tercampur langsung dan secara merata melalui proses vorteks atau menggunakan pipet untuk menghasilkan larutan yang homogen. Buffer AL dan etanol dapat dicampurkan terlebih dahulu dan ditambahkan bersama dalam 1 langkah untuk menghemat waktu saat memproses beberapa sampel. Endapan putih dapat terbentuk pada penambahan Buffer AL dan etanol. Endapan ini tidak mengganggu prosedur QIAamp. Selalu gunakan campuran segar dan buang langsung setelah digunakan.

13. Sentrifugasi sekejap tabung untuk menghilangkan tetesan dari bagian dalam penutup.
14. Secara hati-hati, pindahkan seluruh lisat ke kolom QIAamp MinElute (dalam tabung cuci 2 ml) tanpa membasahi bagian tepinya, tutup penutupnya, dan sentrifugasi pada $6000 \times g$ selama ≥ 1 menit. Letakkan kolom QIAamp MinElute dalam tabung pencucian 2 ml bersih (disediakan), dan buang tabung pencucian yang berisi aliran.
Jika lisat belum menembus membran sepenuhnya setelah sentrifugasi, lakukan sentrifugasi kembali pada kecepatan lebih tinggi hingga kolom QIAamp MinElute kosong.
15. Buka kolom QIAamp MinElute dengan hati-hati, lalu tambahkan 500 μ l Buffer AW1 yang disusun ulang tanpa membasahi tepiannya. Tutup penutupnya dan sentrifugasi pada $6000 \times g$ selama ≥ 1 menit. Letakkan kolom QIAamp MinElute dalam tabung pencucian 2 ml bersih, dan buang tabung pencucian yang berisi aliran.
16. Buka kolom QIAamp MinElute dengan hati-hati, lalu tambahkan 500 μ l Buffer AW2 yang disusun ulang tanpa membasahi tepiannya. Tutup penutup dan sentrifugasi pada $6000 \times g$ selama ≥ 1 menit. Letakkan kolom QIAamp MinElute dalam tabung pencucian 2 ml bersih, dan buang tabung pencucian yang berisi aliran.
Kontak antara kolom QIAamp MinElute dan aliran harus dihindari. Pastikan untuk menyeimbangkan rotor sentrifugasi. Beberapa rotor sentrifugasi dapat bergetar setelah penurunan percepatan, sehingga menghasilkan aliran, yang mengandung etanol, yang kontak dengan kolom QIAamp MinElute. Berhati-hatilah saat melepaskan kolom QIAamp MinElute dan tabung pencucian dari rotor, agar aliran tidak kontak dengan kolom QIAamp MinElute.
17. Lakukan sentrifugasi pada kecepatan penuh (sekitar $20.000 \times g$) selama sekitar 3 menit untuk mengeringkan membran.
Limpahan etanol ke dalam eluat dapat mengganggu beberapa aplikasi hilir.

18. Letakkan kolom QIAamp MinElute ke dalam tabung elusi 1,5 mL bersih (disediakan), dan buang tabung pencucian yang berisi aliran. Buka penutup kolom QIAamp MinElute dengan hati-hati dan masukkan 20-200 μ l Buffer ATE ke pusat membran.

Penting: Jika menggunakan volume elusi sedikit (<50 μ l), salurkan Buffer ATE ke pusat membran untuk memastikan elusi lengkap DNA yang terikat. Kolom QIAamp MinElute memberikan fleksibilitas dalam pilihan volume elusi. Pilih volume sesuai dengan persyaratan aplikasi hilir. Volume eluat berkisar 5 μ l lebih sedikit dari volume larutan elusi yang dimasukkan pada kolom.

19. Tutup penutup dan inkubasi pada suhu ruang (15–25 °C) selama setidaknya 1 menit. Sentrifugasi dengan kecepatan penuh (sekitar 20.000 \times g) selama \geq 1 menit.

Inkubasi kolom QIAamp MinElute yang memuat Buffer ATE selama sekitar 5 menit pada suhu ruang sebelum sentrifugasi dapat meningkatkan hasil DNA.

Pengendalian Mutu

Sesuai dengan Sistem Manajemen Mutu QIAGEN yang bersertifikat ISO, setiap lot QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit diuji terhadap spesifikasi yang telah ditentukan untuk memastikan kualitas produk yang konsisten.

Batasan

Kinerja kit telah ditetapkan menggunakan jaringan FFPE untuk isolasi DNA genomik.

Di bawah atau di atas fiksasi dapat memengaruhi kualitas DNA, yang menghasilkan kinerja buruk dalam uji kadar hilir.

Residu formalin dapat menghambat langkah pencernaan Proteinase K, memastikan dehidrasi menyeluruh pada sampel sebelum ditanam.

Pengguna bertanggung jawab untuk memvalidasi kinerja sistem untuk setiap prosedur yang digunakan di laboratorium mereka yang tidak dicakup oleh studi kinerja QIAGEN.

Untuk meminimalkan risiko dampak negatif hasil diagnostik, kendali yang memadai untuk penggunaan hilir harus digunakan. Untuk validasi lebih lanjut, panduan International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) dalam *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology* disarankan untuk digunakan.

Segala hasil diagnostik yang dihasilkan harus dimaknai sesuai dengan temuan klinis atau laboratorium lainnya.

Dengan QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit, RNA dapat dimurnikan bersama-sama dengan DNA jika terdapat dalam sampel.

Karakteristik Kinerja

Karakteristik kinerja yang berlaku dapat ditemukan pada tab sumber daya dari halaman produk di www.qiagen.com.

Panduan Pemecahan Masalah

Panduan pemecahan masalah dapat membantu menyelesaikan masalah yang muncul. Untuk informasi selengkapnya, lihat juga halaman Pertanyaan Umum (Frequently Asked Questions, FAQ) di Pusat Dukungan Teknis kami: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Ilmuwan di Layanan Teknis QIAGEN selalu senang menjawab setiap pertanyaan yang Anda ajukan terkait informasi dan/atau protokol dalam buku pegangan ini atau teknologi uji kadar dan sampel (untuk informasi kontak, hubungi www.qiagen.com).

Komentar dan saran

Kolom QIAamp MinElute Tersumbat

- | | | |
|----|----------------------------------|--|
| a) | Materi awal terlalu banyak | Kurangi jumlah materi awal. Penting untuk menggunakan jumlah materi awal yang benar (lihat halaman 17). |
| b) | Suhu sentrifugasi terlalu rendah | Suhu sentrifugasi harus sebesar 15–25 °C. Beberapa alat sentrifugasi dapat mendingin hingga di bawah 15 °C bahkan jika ditetapkan pada suhu 20 °C. Hal ini dapat menyumbat Kolom QIAamp MinElute. Jika ini terjadi, tetapkan suhu sentrifugasi menjadi 15–25 °C. |

Hasil DNA rendah

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Materi awal terlalu banyak | Muatan berlebih QIAamp MinElute Spin Columns secara signifikan menurunkan hasil asam nukleat. Kurangi jumlah materi awal (lihat halaman 17). |
| b) | DNA masih terikat pada membran RNeasy MinElute Spin Columns | Ulangi elusi DNA, namun inkubasi QIAamp MinElute Spin Columns di atas meja selama 10 menit dengan dapar ATE (dapar Elusi) sebelum sentrifugasi. |
| c) | Penyimpanan dapar/reagen yang salah | QIAamp MinElute Spin Columns perlu disimpan pada suhu 2–8 °C setelah kit tiba. Periksa suhu penyimpanan yang benar karena paparan terhadap suhu tinggi selama periode waktu yang lama dapat menyebabkan hilangnya fungsionalitas. |

Nilai A_{260}/A_{280} rendah












Air yang digunakan untuk mengencerkan asam nukleat untuk pengukuran A_{260}/A_{280}	Gunakan 10 mM Tris Cl, pH 7,5, bukan air, untuk mengencerkan sampel sebelum mengukur kemurnian.
---	---

DNA tidak bekerja dengan baik dalam aplikasi/uji kadar hilir

Limpahan etanol	Sentrifugasi kolom QIAamp MinElute pada kecepatan penuh diperlukan dalam 2 langkah prosedur: Selama pencucian kedua dengan Buffer AW2, pastikan untuk melakukan sentrifugasi pada $\geq 8.000 \times g$ selama 2 menit pada suhu 15–25 °C untuk mengeringkan membran QIAamp MinElute Spin Columns. Setelah sentrifugasi, keluarkan kolom dengan hati-hati dari tabung penampung agar kolom tidak kontak dengan aliran. Kemudian, tempatkan kolom dalam tabung penampung baru dan sentrifugasi dengan kecepatan penuh selama 5 menit. Sentrifugasi pada kecepatan penuh juga diperlukan untuk menurunkan sampel setelah perlakuan xilena dan langkah pencucian etanol.
-----------------	---

Simbol

Simbol berikut ini terdapat di petunjuk penggunaan atau pada kemasan dan label:

Simbol	Definisi simbol
 Σ <N>	Berisi reagen yang cukup untuk reaksi <N>
	Gunakan sebelum
	Produk ini memenuhi persyaratan Peraturan Eropa 2017/746 untuk perangkat medis diagnostik in vitro.
	Perangkat medis diagnostik in vitro
	Nomor katalog
	Nomor lot
	Nomor materi (yaitu, pelabelan komponen)
	Komponen
	Mengandung
	Nomor
	Nomor Barang Perdagangan Global (Global Trade Item Number, GTIN)

Simbol	Definisi simbol
Rn	R adalah untuk revisi Instruksi Penggunaan dan n adalah nomor revisi
	Batas suhu
	Produsen
	Baca petunjuk penggunaan
	Jauhkan dari sinar matahari
	Peringatan/perhatian
	Proteinase K
	Natrium azida
	Saat kedatangan
	Tulis tanggal saat ini setelah menambahkan etanol ke dalam botol
	Etanol

Simbol

Definisi simbol

ADD

Menambahkan

GuHCl

Guanidina hidroklorida

MALEIC ACID

Asam maleat

UDI

Pengidentifikasi unik perangkat

Apendiks: Penanganan

Penanganan umum

Selalu kenakan sarung tangan vinil atau lateks saat menangani reagen dan sampel untuk mencegah kontaminasi dari permukaan kulit atau dari peralatan laboratorium yang berdebu. Tangan dan partikel debu dapat membawa bakteri dan jamur dan merupakan sumber umum kontaminasi. Seringlah mengganti sarung tangan dan selalu tutup tabung. Hindari kontaminasi mikroba dari reagen kit.

Perangkat plastik sekali pakai

Penggunaan tabung polipropilena sekali pakai yang steril direkomendasikan selama prosedur.

Informasi Pemesanan

Produk	Isi	No. Kat.
QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit — untuk pemurnian DNA genomik dari jaringan parafin-tertanam	Untuk 50 penyiapan DNA: 50 Kolom QIAamp MinElute, Proteinase K, Buffers (Dapar), Wash Tubes (Tabung Pencucian) (2 ml), Elution Tubes (Tabung Elusi) (1,5 ml), Lysis Tubes (Tabung Lisis) (2 ml)	60404

Untuk informasi pelisensian terbaru dan penafian produk-spesifik, lihat Petunjuk Penggunaan kit QIAGEN. Petunjuk Penggunaan kit QIAGEN tersedia di www.qiagen.com atau dapat dipesan dari Layanan Teknis QIAGEN atau distributor lokal Anda.

Riwayat Revisi Dokumen

Revisi	Deskripsi
R1, Juni 2022	<ul style="list-style-type: none">● Pembaruan Versi Kit 2 untuk kepatuhan terhadap IVDR● Pembaruan bab Deskripsi dan Prinsip● Pembaruan bab Bahan yang Diperlukan tetapi Tidak Disediakan● Pembaruan bab Peringatan dan Pencegahan● Pembaruan bab Penyimpanan dan Penanganan Reagen● Pembaruan bab Panduan Pemecahan Masalah● Pembaruan Lampiran
R2, Februari 2023	<ul style="list-style-type: none">● Pembaruan bab Penyimpanan dan Penanganan Spesimen

Perjanjian Lisensi Terbatas untuk QIAamp DSP DNA Kit

Dengan menggunakan produk ini, setiap pembeli atau pengguna produk menyetujui ketentuan berikut:

1. Produk hanya boleh digunakan sesuai dengan protokol yang disediakan bersama produk dan buku pegangan ini dan hanya digunakan dengan komponen yang terdapat di dalam panel saja. QIAGEN tidak memberikan lisensi apa pun berdasarkan kekayaan intelektualnya untuk menggunakan atau menggabungkan komponen yang tersedia dengan panel ini dengan komponen apa pun yang tidak termasuk dalam panel ini kecuali sebagaimana dijelaskan dalam protokol yang disediakan dengan produk, buku pegangan ini, dan protokol tambahan yang tersedia di www.qiagen.com. Beberapa protokol tambahan ini telah disediakan oleh pengguna QIAGEN bagi pengguna QIAGEN. Protokol-protokol tersebut belum diuji secara menyeluruh atau dioptimalkan oleh QIAGEN. QIAGEN tidak memberikan garansi atau menjamin bahwa pihaknya tidak melanggar hak pihak ketiga.
2. Selain lisensi yang dinyatakan secara tegas, QIAGEN tidak membuat jaminan bahwa panel ini dan/atau penggunaannya tidak melanggar hak-hak pihak ketiga.
3. Panel ini serta komponennya dilisensikan untuk penggunaan satu kali dan tidak boleh digunakan kembali, diperbarui, atau dijual kembali.
4. QIAGEN secara khusus menyangkal segala lisensi lain, yang dinyatakan secara tegas maupun tersirat selain yang dinyatakan secara tegas di atas.
5. Pembeli dan pengguna panel setuju untuk tidak mengambil atau mengizinkan orang lain mengambil langkah apa pun yang dapat menyebabkan atau mendukung tindakan apa pun yang dilarang di atas. QIAGEN dapat memberlakukan larangan Perjanjian Lisensi Terbatas ini di Pengadilan mana pun, dan akan memulihkan semua biaya investigasi dan Pengadilannya, termasuk biaya pengacara, dalam tindakan apa pun untuk menegakkan Perjanjian Lisensi Terbatas ini atau hak kekayaan intelektualnya yang terkait dengan panel dan/atau komponennya.

Untuk ketentuan lisensi yang diperbarui, lihat www.qiagen.com.

Merek Dagang: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, MinElute® (QIAGEN Group); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.).

Feb-2023 HB-3033-002 1130780ID © 2023 QIAGEN, hak cipta dilindungi undang-undang.

