

Februari 2023

Bruksanvisning (handbok) till QIAamp[®] DSP DNA FFPE Tissue Kit



Version 2

IVD

För in vitro-diagnostisk användning

För användning med QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit



Katalognummer

REF

60404



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND

R2 **MAT**

1130780SV

Innehåll

Avsedd användning	4
Avsedd användare	4
Beskrivning och princip	5
Sammanfattning och förklaring	5
Princip för Proceduren	5
Material som medföljer	7
Kit-innehåll	7
Paketets innehåll	8
Material Som Behövs Men Inte Medföljer	9
Ytterligare reagenser	9
Förbrukningsartiklar	9
Utrustning	9
Varningar och försiktighetsåtgärder	10
Säkerhetsinformation	10
Vid nödsituationer	11
Försiktighetsåtgärder	11
Bortskaffning	12
Förvaring och hantering av reagenser	13
Användningsstabilitet	13
Förvaring och hantering av prover	14
Procedur	15
Protokoll: Isolering av Genomisk DNA från Snitt av FFPE-Vävnad	21

Kvalitetskontroll	24
Begränsningar.....	25
Prestandaegenskaper	26
Felsökning Guide.....	27
Symboler	28
Bilaga: Hantering	31
Beställningsinformation.....	32
Dokumentrevisioner.....	33

Avsedd användning

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit är ett system där silikonmembrans-teknik (QIAamp-teknik) används för isolering och rening av genomisk DNA från formalinfixerade, paraffininbäddade (Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE)-biologiska prover.

Det är avsett för att användas vid manuell provberedning och ger inga kvalitativa eller kvantitativa testresultat.

Avsedd användare

Produkten är avsedd att användas av yrkesmässiga användare, såsom tekniker och läkare som är utbildade i molekylärbiologiska metoder för in vitro-diagnostik (IVD)-syften.

Beskrivning och princip

Sammanfattning och förklaring

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit används för rening av DNA från sektioner av FFPE-vävnad. Det använder en väletablerad QIAamp DNA-mikroteknik för rening av genomisk och mitokondrie-DNA från små exempelvolymmer eller storlekar. Kittet kombinerar de selektiva bindande egenskaperna hos ett silikonbaserat membran med flexibla volymer för eluering.

Lyseringsförhållandena gör att genomisk DNA effektivt kan renas från sektioner av FFPE-vävnad utan behov av inkubering över natten. Inkubering vid en förhöjd temperatur efter Proteinase K-nedbrytning avlägsnar delvis formalinets korslänkning av det frigjorda DNA, vilket kan förbättra avkastningen och DNA-prestanda i nedströms analyser. OBS! DNA som isolerats från FFPE-prover vanligtvis har lägre molekylvikt än DNA från färska eller frysta prover. Graden av fragmentering beror på provets typ och ålder och de förhållanden som använts för fixering.

Efter provlysering, är den enkla QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit-proceduren passande för ett samtidigt processande av prover.

Det är användarens ansvar att validera systemegenskaperna för alla de procedurer som används i laboratoriet som inte ingår i QIAGEN® egenskapsstudier som beskrivs i denna handbok.

Princip för Proceduren

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit-proceduren består av 6 steg (Figur 1):

- Avlägsnande av paraffin: Paraffin löses upp i xylen och avlägsnas.
- Lysering: Provet lyseras vid 56 °C under denaturerande förhållanden med Proteinase K.

- Uppvärmning: Inkubering vid 90 °C vänder på formalinets korslänkning.
- Bindning: DNA binds till membranet och kontaminerat genomflöde.
- Tvättning: Kvarvarande kontaminationer tvättas bort.
- Eluera: Ren, koncentrerad DNA elueras från membranet.

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-procedur

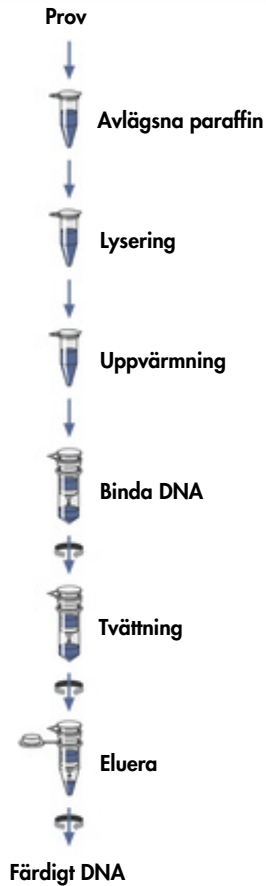


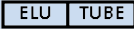
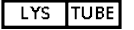

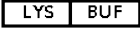

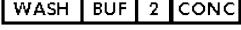
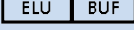




Bild 1. QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit-procedur.

Material som medföljer

Kit-innehåll

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit	(50)
Katalognr.	60404
Antal beredningar	50

	Identitet	Symboler	Kvantitet
QIAamp MinElute®	QIAamp MinElute Columns with Wash Tubes (QIAamp MinElute-kolonner med tvättrör)		50
WT	Wash Tubes (Tvättrör) (2 ml)		3 x 50
ET	Elution Tubes (Eluerings-rör) (1,5 ml)		50
LT	Lysis Tubes (lyserings-rör) (2 ml)		50
ATL	Tissue Lysis Buffer (Lyseringsbuffert för vävnad)		10 ml
AL	Lysis Buffer* (lyseringsbuffert)		12 ml
AW1	Wash Buffer 1* (Tvättbuffert 1) (koncentrat)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2† (Tvättbuffert 2) (koncentrat)		13 ml
ATE	Elution Buffer† (Eluering buffert)		12 ml
PK	Proteinase K (Proteinas K)		1,25 ml
–	Bruksanvisning (Handbok)		1

* Innehåller guanidinsalt. Inte kompatibel med desinfektionsmedel med blekmedel. Sidan 10 innehåller Varningar och försiktighetsåtgärder.

† Innehåller natriumazid som konserveringsmedel.

Paketets innehåll

De viktigaste komponenterna i kittet förklaras nedan.

Tabell 1. Aktiva innehållsämnen i medföljande reagenser

Reagens		Aktivt innehållsämne/en	Koncentration (w/w) [%]
Symbol	Namn		
ATL	Buffer ATL	Natriumdodecylsulfat	≥ 1 till < 10
AL	Buffer AL	Guanidinhydroklorid Maleinsyra	> 30 till < 50 ≥ 0,1 till < 1
AW1	Buffer AW1	Guanidinhydroklorid Etanol	≥ 50 till < 70 ≥ 10 till < 90
AW2	Buffer AW2	Etanol	≥ 10 till < 90
ATE	Buffer ATE	Ingen	-
PK	Proteinase K (Proteinas K)	Proteinase K	≥ 1 till < 10

För att minimera risken för negativ påverkan på diagnostiska resultat genererade efter DNA-isolering, måste lämpliga kontroller för nedströms-applikationer användas.

Material Som Behövs Men Inte Medföljer

Använd alltid laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Mer information finns i tillämpliga säkerhetsdatablad (Safety Data Sheets, SDS) som kan erhållas av respektive tillverkare.

Ytterligare reagenser

- Xylen
- Etanol (96–100 %)*

Förbrukningsartiklar

- Vid beslut att inte använda de provrör som medföljer i kitet rekommenderar vi mikrocentrifugrör på 1,5 eller 2 mL (för lyseringsstegen) och ett 1,5 mL mikrocentrifugrör (för elueringsstegen) (t.ex. från Sarstedt®, kat.nr 72.690). Vi rekommenderar DNase/RNase-fria, koniskt formade rör med säkerhetslock. Det är användarnas ansvar att validera systemets prestanda för eventuella procedurer som används i deras laboratorium och inte ingår i QIAGEN prestandastudier.
- Pipetter och pipettspetsar (vi rekommenderar starkt pipettspetsar med aerosolbarriärer för att undvika korskontaminering)

Utrustning†

- Termomixer‡, uppvärmd orbital inkubator, värmeblock eller vattenbad som klarar inkubation vid 56 °C, 70 °C och 90 °C
- Mikrocentrifug† med rotor för 2 ml provrör
- Vortexblandare

* Använd inte denaturerad alkohol som innehåller andra substanser, såsom metanol eller metyletylketon.

† Säkerställ att instrumenten är kontrollerade och kalibrerade enligt tillverkarens rekommendationer före användning.

‡ För att garantera att prover bearbetas korrekt i QIAamp DSP DNA FFPE-procedurerna, rekommenderas starkt att instrumenten bör kalibreras i enlighet med tillverkarnas rekommendationer.

Varningar och försiktighetsåtgärder

Baserat på QIAGEN riskhantering implementerades alla avsedda åtgärder för riskkontroll i produktens design. De totala kvarstående riskerna har bedömts vara acceptabla och användandet av enheten har bedömts som säkert. Denna handbok innehåller instruktioner, varningar och försiktighetsåtgärder för att garantera säkerhet och prestanda för enheten. Dessa måste noga efterföljas.

Var medveten om att du kan behöva konsultera lokala regelverk för rapportering av allvariga incidenter som inträffat i samband med enheten till tillverkaren och/eller auktoriserad representant och den tillsynsmyndighet där användaren och/eller patienten befinner sig.

Säkerhetsinformation

Använd alltid laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Mer information finns i tillämpliga säkerhetsdatablad (Safety Data Sheet, SDS). De är tillgängliga på webben i behändig, kompakta PDF-format på adressen www.qiagen.com/safety, där du kan hitta, visa och skriva ut säkerhetsdatablad (SDS) för varje QIAGEN-kit och kit-komponent.

FÖRSIKTIGHET Tillsätt ALDRIG blekmedel eller sura lösningar direkt till provberedningsavfallet.



- Buffer AL och Buffer AW1 innehåller guanidinhydroklorid som kan bilda starkt reaktiva sammansättningar i kombination med blekmedel.
- Om vätska som innehåller dessa buffertar spills ut, rengör man med lämpligt laboratorierengöringsmedel och vatten. Om den spillda vätskan innehåller potentiellt smittfarliga ämnen rengörs det påverkade området först med laboratorierengöringsmedel och vatten och sedan med natriumhypoklorit 1 % (v/v).
- Prover är potentiellt smittsamma. Kassera avfall från prover och analys i enlighet med lokala säkerhetsprocedurer.

Vid nödsituationer

CHEMTREC

USA & Kanada 1-800-424-9300

Utanför USA och Kanada +1 703-527-3887

Försiktighetsåtgärder

Buffer AL



Innehåller: guanidinhydroklorid; maleinsyra. Varning! Kan vara skadligt vid förtäring eller inandning. Irriterar huden. Orsakar allvarlig ögonirritation. Kan orsaka allergisk hudreaktion. Vid bestående ögonirritation: Sök läkarhjälp. VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om detta går lätt att göra. Fortsätt att skölja. Kontaminerade kläder tas av och tvättas innan de används igen. VID HUDKONTAKT: Tvätta rikligt med tvål och vatten. Om hudirritation uppstår: Sök läkarhjälp. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.

Buffer ATL



Varning! Orsakar lindrig hudirritation. Om hudirritation uppstår: Sök läkarhjälp.

Buffer AW1



Innehåller guanidinhydroklorid. Varning! Skadligt vid förtäring eller inandning. Irriterar huden. Orsakar allvarlig ögonirritation. Kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare om du känner dig sjuk. Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. Kontaminerade kläder tas av och tvättas innan de används igen. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.

Proteinase K



Innehåller: Proteinase K. Fara! Orsakar lindrig hudirritation. Kan orsaka allergi- eller astmasymptom eller andningssvårigheter vid inandning. Inandas inte damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. Vid besvär i luftvägarna: Kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare. VID INANDNING: Vid andningsbesvär, flytta personen till frisk luft och se till att han eller hon vilar i en ställning som underlättar andningen. Använd andningsskydd.

Bortskaffning

Avfallet innehåller prover och reagenser. Detta avfall kan innehålla giftigt och smittsamt material och måste kasseras på lämpligt sätt. Se vidare i era lokala säkerhetsföreskrifter för lämpliga procedurer för att kassera avfallet.

Mer information finns i tillämpliga säkerhetsdatablad (Safety Data Sheet, SDS). Dessa är tillgängliga online i PDF-format på www.qiagen.com/safety där ni kan hitta, granska och skriva ut säkerhetsdatablad (SDS) för alla kit och kit-komponenter från QIAGEN.

Förvaring och hantering av reagenser

QIAamp MinElute-kolonner ska förvaras vid 2-8 °C efter leveransen och kan användas fram till utgångsdatumet på kit-lådan.

Alla buffertar kan förvaras i rumstemperatur (15-25 °C) och är stabila till och med utgångsdatumet, om de förblir öppnade.

Användningsstabilitet

Rekonstituerad Buffer AW1 och AW2 kan förvaras vid rumstemperatur (15–25 °C) i upp till 1 år eller fram till kitets utgångsdatum, beroende på vilket , som är kortast.

Förvaring och hantering av prover

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit har tagits fram för användning FFPE-prover.

DNA-stabiliteten är beroende av olika faktorer såsom provtagnings-, hanterings-, berednings- och förvaringsförhållanden som kan påverka dess användning i nedströms applikationer. Det är viktigt att konsultera bruksanvisningen för specifika nedströms applikationer och/eller verifiera och validera hela arbetsflödet för att etablera tillämpliga villkor.

För allmän information om laboratorieförfaranden för provtagnings-, hanterings-, berednings- och förvaringsförhållanden för FFPE-vävnad rekommenderar vi att du följer ISO 20166-3:2018 "Molekylärbiologiska in vitro-diagnostiska undersökningar – Riktlinjer för pre-analytiska processer för formalinfixerad och paraffinbäddad (FFPE) vävnad – Del 3: Isolerad DNA" och CLSI MM13-A "Provtagning, transport, beredning och förvaring av prover för molekylära metoder; godkänd riktlinjer".

DNA elueras i Buffer ATE och är genast klart för användning vid amplifieringsreaktioner eller för lagring (förhållandena beror på användarkraven). Se vidare i kittets gällande handböcker för rekommenderade lagringsförhållanden för specifika QIAGEN nedströms-applikationer.

Procedur

Viktigt att tänka på före start

- Alla reagenser som medföljer QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit är avsedda att användas enbart tillsammans med övriga reagenser i samma QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit. För att bästa effekt ska kunna garanteras får kittets reagenser inte bytas ut mot något annat reagens.
- Kontrollera att kittets komponenter inte är skadade efter mottagande av kittet. Om förpackningarna eller buffert-flaskorna är skadade, kontakta QIAGEN teknisk service eller er lokala distributör. I händelse av vätskespill, hänvisas till "Varningar och försiktighetsåtgärder", (sida 10). Använd inte skadade kit-komponenter eftersom det kan leda till dålig kit-prestanda.
- Använd inte kit-komponenter från andra kit med det kittet som för närvarande används såvida inte lotnumren är identiska.
- Undvik mikrobiell kontaminering av kittets reagenser.
- Detta kit bör endast användas av personal utbildad i in vitro-diagnostisk laboratoriepraxis.
- För att undvika kontaminering via hud eller dammig laborieutrustning ska alltid latex- eller vinylhandskar bäras vid hantering av reagenser och prover. Händer och dammpartiklar kan bära på bakterier och mögelsvampar, vilket är de vanligaste orsakerna vid kontaminering. Byt laboratoriehandskarna ofta och håll provrören stängda.
- Oanvända buffertar, genomflöden och provrester ska kasseras i enlighet med lokala procedurer.
- Om ni använder egna plastbehållare, rekommenderas användande av DNase/RNase-fria lågbindande, konformade 1,5-2 ml polypropylen-rör av engångstyp med säkerhetslock genom hela rening-proceduren.
- Utför alla centrifugeringsstegen i rumstemperatur (15-25 °C).

- Alla buffertar ska lagras vid rumstemperatur (15-25 °C) och de ska vara ordentligt blandade innan användning.
- Ställ in en termomixer eller uppvärmd skakinkubator till 56 °C för användning i steg 9. Om det inte finns någon termomixer eller uppvärmd orbital inkubator tillgänglig, går det att använda ett värmeblock eller vattenbad istället.
- Om Buffer AL eller Buffer ATL innehåller precipitater (utfällningar) så kan de lösas upp genom att värmas till 70 °C med lugn omrörning.
- Kontrollera att Buffer AW1 och Buffer AW2 har förberetts enligt nedanstående anvisningar.
- De kvalitetskontrollerande procedurerna hos QIAGEN använder funktionella kit-leveranstester för varje individuellt kit-lot. Blanda därför inte reagens från de olika kittens lotnummer och kombinera inte individuella reagens från olika reagensloter.

Beredning av buffertar

Beredning av Buffer ATL

- Innan du startar proceduren, kontrollera att det inte har bildats ett precipitat (utfällning) i Buffer ATL. Vid behov kan du lösa upp precipitatet (utfällningen) genom upphettning till 70 °C med en försiktig skakande rörelse.

Beredning av Buffer AL

- Innan du startar proceduren, kontrollera att det inte har bildats ett precipitat (utfällning) i Buffer AL. Vid behov kan du lösa upp precipitatet (utfällningen) genom upphettning till 70 °C med en försiktig skakande rörelse.

Beredning av Buffer AW1

- Tillsätt 25 ml etanol (96-100%) * i flaskan som innehåller 19 ml av koncentrerad Buffer AW1. Markera kryssrutan på flaskans etikett för att visa att etanol har tillsatts. Rekonstituerad Buffer AW1 kan lagras vid rumstemperatur (15-25 °C) i upp till 1 år eller till utgångsdatumet för kittet, vilket som inträffar först. Vi rekommenderar att man skriver rekonstitutionsdatum på buffert-etiketten.

OBS!: Innan proceduren påbörjas, blanda rekonstituerad Buffer AW1 genom omskakning.

Beredning av Buffer AW2

- Tillsätt 30 ml etanol (96-100 %) i flaskan som innehåller 13 ml av koncentrerad Buffer AW2. Markera kryssrutan på flaskans etikett för att visa att etanol har tillsatts. Rekonstituerad Buffer AW2 kan förvaras i rumstemperatur (15-25 °C) i upp till 1 år eller fram till utgångsdatumet för kittet, vilket av dom som inträffar först. Vi rekommenderar att man skriver rekonstitutionsdatum på buffert-etiketten.

OBS!: Innan proceduren påbörjas, blanda rekonstituerad Buffer AW2 genom omskakning.

Startmaterial

Startmaterialet för DNA-rening är skurna snitt med FFPE-vävnad (helst nyskurna). Flera snitt kan kombineras i 1 preparat. Om ni saknar information om ert startmaterials egenskaper, rekommenderar vi att ni börjar med högst 3 snitt per preparat.

* Använd inte denaturerad alkohol som innehåller andra substanser, såsom metanol eller metyletylketon.

Användare bör optimera antalet snitt, snittens tjocklek och storleken på snittens yta, för alla typer av procedurer som används i deras laboratorium. Om kittet används tillsammans med en QIAGEN nedströmsapplikation, se vidare i gällande handbok för instruktioner.

Hanteringsprocedur för att undvika korskontaminering

På grund av känslighet i teknikerna för nukleinsyrans amplifiering är följande försiktighetsåtgärder nödvändiga vid hantering av QIAamp MinElute-kolonner för att förhindra korskontaminering mellan proverna:

- Se till att inte överfylla provrören med vävnad.
- Byt skalpell mellan proverna när du skrapar vävnaden.
- Applicera försiktigt provet eller lösningen till QIAamp MinElute-kolonnen. Pipettera provet i QIAamp MinElute-kolonnen utan att blöta ned kanten på kolonnen.
- Byt alltid pipettspetsar mellan vätskeöverföringar. Vi rekommenderar att du använder pipettspetsar med aerosolbarriär.
- Använd alltid nya tvättrör vid utförande av tvättningsstegen av proven.
- Se till att rörens lock är ordentligt förslutna innan vortexblandning och centrifugering.
- Se till att QIAamp MinElute-kolumnen är ordentligt stängd innan centrifugering.
- Efter alla stegen för puls-vortexblandning och 90 °C inkubationssteg ska mikrocentrifugrören centrifugeras kortvarigt för att avlägsna droppar från lockens insida.
- Öppna endast en QIAamp MinElute-kolonn åt gången och undvik att bilda aerosoler.
- Byt alltid skalpeller mellan proverna.
- Byt alltid pipettspetsar mellan vätskeöverföringar. För att minimera korskontaminering så rekommenderar vi att du använder pipettspetsar med aerosolbarriär och undviker att använda multisteg-pipetter.
- Använd alltid engångshandskar och kontrollera regelbundet om de har kontaminerats av provmaterial. Kassera handskarna om ni misstänker att de har blivit kontaminerade.
- Öppna endast ett provrör åt gången.

Centrifugering

QIAamp MinElute-kolonner passar de flesta standard 1,5-2 ml mikrocentrifug-provrör. Centrifugering av QIAamp MinElute-kolonner utförs vid cirka 6000 x g för att minska centrifugljudet. Centrifugering vid full hastighet kommer inte att förbättra DNA-utbytet. Centrifugering av QIAamp MinElute-kolonner vid full hastighet krävs dock i 2 steg av proceduren: ett torrt centrifugeringssteg efter att membranet har tvättats och vid elueringssteget. Centrifugering vid full hastighet krävs också för att sänka provhalten efter xylene-behandlingen och etanol-tvättsteget.

Samtliga steg för centrifugering ska utföras vid rumstemperatur (15-25 °C). Låg centrifugeringstemperatur kan leda till suboptimal extraktion.

Bearbetning av QIAamp MinElute-kolonner i en mikrocentrifug

- Stäng alltid QIAamp MinElute-kolonnerna innan de placeras i en mikrocentrifug.
- Undvik att vidröra QIAamp MinElute-kolonnernas membran med pipettspetsen.
- Genomflödesfraktioner kan innehålla farligt avfall och ska kasseras på lämpligt sätt.
- För en effektiv parallell bearbetning av flera prover, rekommenderar vi att ett ställ fylls med tvättrör, så att QIAamp MinElute-kolonnerna kan överföras efter centrifugeringen. Använda tvättrör som innehåller genomflöden kan kasseras och de nya tvättrören som innehåller QIAamp MinElute-kolonner kan placeras direkt i en mikrocentrifug.
- Se till så att erhålla fullständig spårbarhet för provet under hela processen.

Eluerande av rengjort DNA

För nedströms applikationer som kräver små startvolymmer (T.ex., viss PCR-analys), kan ett mer koncentrerat eluat öka analysens känslighet, men kan också resultera i en ökad koncentration av potentiella hämmare.

En ökning av elueringsvolym kommer att minska koncentrationen av DNA i eluatet.

Volymen av återställt eluat kan bli cirka 5 µl mindre än volymen för Buffer ATE som applicerats på QIAamp MinElute-kolonnen. Exempelvis, en elueringsvolym på 20 µl resulterar i ≥ 15 µl eluat. Volymen man får ut av återställt eluat beror på provets natur.

Det är användarnas ansvar att optimera en elueringsvolym för alla procedurer som används i deras laboratorium. Se vidare i kitt-handböckerna för de rekommenderade volymerna gällande eluering som krävs för specifika QIAGEN nedströms applikationer.

Utbytena kan höjas om kolonnen inkuberas med Buffer ATE vid rumstemperatur i, exempelvis, 5 minuter innan centrifugering. Eluerat DNA kan samlas in i 1,5 ml eluerings-rören (medföljande). Lagringsförhållanden för eluerat DNA är beroende av de användardefinierade kraven. Se vidare i kitt-handböckerna angående rekommenderade lagringsförhållanden för QIAGEN nedströms applikationer.

Protokoll: Isolering av Genomisk DNA från Snitt av FFPE-Vävnad

Procedur

1. Trimma bort överflödigt paraffin från provblocket med en skalpell.
2. Snittsektionerna följer standardiserad laboratoriepraxis (se "Startmaterial", sida 17). Användare bör optimera antalet snitt, snittens tjocklek och storleken på snittens yta, för alla typer av procedurer som används i deras laboratorium. Se till att provet erhåller spårbarhet under hela proceduren.
3. Skrapa omedelbart vävnaden från snitten med en steril skalpell ned i ett lyseringsrör (medföljer). Se till att all tillgänglig vävnad är placerad i provröret. Tillsätt 1 mL xylen till provet, stäng locket och vortexblanda kraftfullt tills paraffinet löses upp (t.ex., 10 sekunder). Se till att provröret är ordentligt stängt för att undvika att xylen spills ut, korskontaminering mellan prover och möjlig kontakt med xylenet.
OBS!: Använd xylen i dragskåp eller annan lämplig inneslutningsutrustning.
4. Centrifugera i full hastighet i ungefär 2 minuter vid rumstemperatur för att samla upp vävnadspelleten. Om ingen vävnadspelletens formades så repetera detta steg.
OBS!: Låg centrifugeringstemperatur kan leda till suboptimal extraktion.
5. Avlägsna och kassera supernatanten genom pipettering. Behåll pelleten.
Supernatant innehåller xylen, vilket är ett farligt avfall och ska kasseras på ett lämpligt sätt, i enlighet med lokala bestämmelser.
6. Tillsätt 1 ml etanol (96-100 %) till vävnad-pelleten och vortexblanda ordentligt.
Etanol extraherar xylenrester från provet och ska kasseras på ett lämpligt sätt.

7. Centrifugera vid full hastighet i cirka 2 minuter vid rumstemperatur.

Avlägsna en supernatant försiktigt genom pipettering. Avlägsna inte något av pelleten.

Avlägsna försiktigt kvarvarande etanol med hjälp av en fin pipettspets. Öppna provröret och inkubera vid 15-40 °C till att all kvarvarande etanol har avdunstat. Avlägsnande av kvarvarande etanol är avgörande för att lyckas med extraktionen.

OBS!: Lägre inkubations-temperatur saktar in avdunstningstiden, medan högre temperatur kan övertorka pelleten vilket gör den svår att suspendera.

8. Återsuspendera pelleten i 180 µl Buffer ATL. Tillsätt 20 µl Proteinase K och vortexblanda.

OBS!: Pellets måste vara ordentligt återsuspenderad i Buffer ATL.

9. Inkubera vid 56 °C i ungefär 1 timme (tills att provet lyserats fullständigt).

10. Inkubera vid 90 °C i 1 timme.

Inkuberingen vid 90 °C i Buffer ATL häver delvis modifieringen med formaldehyd av nukleinsyror. Kortare tider för inkubation eller lägre temperaturer kan påverka DNA-kvaliteten och kvantiteten. Om endast 1 värmeblock används ska provet stå i rumstemperatur efter inkubering vid 56 °C tills värmeblocket är uppe i 90 °C.

11. Centrifugera provröret som hastigast för att avlägsna droppar från lockets insida.

12. Tillsätt 200 µl Buffer AL till provet och vortexblanda. Tillsätt sedan 200 µl etanol (96-100 %) och vortexblanda ordentligt igen.

Det är viktigt att provet, Buffer AL och etanolen vortexblandas eller pipetteras omedelbart och ordentligt för att ge en homogen lösning. Buffer AL och etanol kan förblandas och läggas ihop i 1 steg för att spara tid vid bearbetning av flera prover. Ett vitt precipitat (utfällning) kan bildas vid tillsättning av Buffer AL och etanol. Detta precipitat (utfällning) påverkar inte QIAamp-proceduren. Använd alltid en färsk blandning och kassera den omedelbart efter användning.

13. Centrifugera provröret som hastigast för att avlägsna droppar från lockets insida.

14. Överför försiktigt hela lysatet till QIAamp MinElute-kolonnen (i ett 2 mL tvättrör), stäng locket utan att blöta kanten och centrifugera i $6\ 000 \times g$ i ≥ 1 minut. Placera QIAamp MinElute-kolonnen i ett rent 2 mL tvättrör (medföljer) och kassera det tvättröret som innehåller genomflödet.

Om ett lysat inte har passerat helt igenom membranet efter centrifugeringen, ska du centrifugera på nytt vid en högre hastighet tills QIAamp MinElute-kolonnen är tom.

15. Öppna försiktigt QIAamp MinElute-kolonnen och tillsätt 500 µl rekonstituerad Buffer AW1 utan att blöta ned kanten. Stäng locket och centrifugera vid 6 000 x g i ≥ 1 minut. Placera QIAamp MinElute-kolonnen i ett rent 2 ml tvättrör och kassera det tvättrör som innehåller genomflödet.
16. Öppna försiktigt QIAamp MinElute-kolonnen och tillsätt 500 µl rekonstituerad Buffer AW2 utan att blöta ned kanten. Stäng locket och centrifugera vid cirka 6000 x g i ≥ 1 minut. Placera QIAamp MinElute-kolonnen i ett rent 2 ml tvättrör och kassera det tvättrör som innehåller genomflödet.

Kontakt mellan QIAamp MinElute-kolonnen och genomflödet bör undvikas. Se till att balansera centrifugens rotor. Vissa centrifugers rotor kan vibrera vid inbromsning, vilket kan göra att genomflödet som innehåller etanol kommer i kontakt med QIAamp MinElute-kolonnen. Var försiktig vid borttagande av QIAamp MinElute-kolonnen och tvättröret från rotorn så att genomflödet inte kommer i kontakt med QIAamp MinElute-kolonnen.

17. Centrifugera i full hastighet (cirka 20 000 x g) i ungefär 3 minuter för att torka membranet.

Överföring (carryover) av etanol in i eluatet kan påverka vissa nedströms-applikationer.

18. Placera QIAamp MinElute-kolonnen i ett rent 1,5 mL elueringsrör (medföljer) och kassera det tvättrör som innehåller genomflödet. Öppna försiktigt locket på QIAamp MinElute-kolonnen och tillsätt 20-200 µl Buffer ATE mitt på membranet.

Viktigt: Om små elueringsvolymerna används (< 50 µl) dispensera då Buffer ATE på mitten av membranet för att säkerställa fullständig eluering av bundet DNA. QIAamp MinElute-kolonner erbjuder flexibilitet vid valet av elueringsvolym. Välj en volym i enlighet med kraven för den nedströmmande applikationen. Den erhållna volymen av eluat kan vara upp till 5 µl mindre än volymen för elueringslösningen som tillsattes till kolonnen.

19. Stäng locket och inkubera vid rumstemperatur (15–25 °C) i minst 1 minut. Centrifugera vid full hastighet (ca. 20 000 x g) i ≥ 1 minut.

Inkubering av QIAamp MinElute-kolonnen som laddats med Buffer ATE i ungefär 5 minuter vid rumstemperatur innan centrifugering kan öka DNA-utbytet.

Kvalitetskontroll

I enlighet med QIAGEN ISO-certifierade kvalitetshanteringsystem testas varje lot av QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit mot förbestämda specifikationer för att garantera konstant produktkvalitet.

Begränsningar

Kittets prestanda har fastställts med användning av FFPE-vävnad för isolering av genomisk DNA.

Under- eller överfixering kan påverka DNA-kvalitet och resultera i dålig prestanda i nedströms analyser.

Kvarvarande formalin kan hämma proteinas K-nedbrytningssteget. Tillse noggrann dehydrering av proverna innan inbäddning.

Det är användarens ansvar att validera systemegenskaperna för alla de procedurer som används i laboratoriet som inte ingår i QIAGEN egenskapsstudier.

För att minimera risken för negativ påverkan på de diagnostiska resultaten, bör lämpliga kontroller för nedströms- tillämpningar användas. För ytterligare validering rekommenderas riktlinjerna enligt International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) i ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology.

Eventuella diagnostiska resultat som erhålls måste tolkas tillsammans med övriga kliniska fynd eller laboratoriefynd.

Vid användning av QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit, kan RNA renas samtidigt som DNA om det finns närvarande i provet.

Prestandaegenskaper

Tillämpliga prestandaegenskaper finns att hitta under resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com.

Felsökning Guide

Den här guiden för felsökning kan vara till hjälp för att lösa eventuella problem som uppstår. Mer information finns på sidan Vanliga frågor (Frequently Asked Questions, FAQ) på vårt tekniska supportcenter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Dessutom svarar QIAGEN teknisk service alltid gärna på era frågor om informationen och/eller protokollen i denna handbok eller prov- och analys-metoder (för kontaktinformation, besök www.qiagen.com).

Kommentarer och förslag

Blockerade QIAamp MinElute-kolonner

- | | | |
|----|--|---|
| a) | För mycket startmaterial | Minska på mängden av startmaterial. Det är av största vikt att använda rätt mängd av startmaterial (se sida 17). |
| b) | Centrifugering-temperaturen är för låg | Centrifugerings-temperaturen ska vara 15-25 °C. Vissa centrifuger kan kyla ner till lägre än 15 °C även då de är inställda på 20 °C. Detta kan orsaka formationer av precipitater (uffällningar) som kan tappas igen QIAamp MinElute-kolonnerna. Om detta inträffar, ställ in centrifugerings-temperaturen på 15–25 °C. |

Lågt DNA-utbyte

- | | | |
|----|--|---|
| a) | För mycket startmaterial | Överbelastning av QIAamp MinElute kolonn minskar märkbart utbytet av nukleinsyror. Minska på mängden av startmaterial (se sidan 17). |
| b) | DNA som fortfarande är bundet till RNeasy MinElute rotationskolonnns membran | Upprepa eluering av DNA, men inkubera QIAamp MinElute-rotationskolonnen på en bänk i 10 minuter med ATE-buffert (elueringbuffert) innan centrifugering. |
| c) | Felaktig förvaring av buffertar / reagenser | QIAamp MinElute spin columns måste förvaras vid 2-8 °C vid kittets ankomst. Kontrollera så att temperaturen är korrekt, då exponering för högre temperaturer under längre tidsperioder kan leda till förlust av funktionaliteten. |

Lågt A_{260}/A_{280} -värde











Vatten som används för att späda ut nukleinsyra för A_{260}/A_{280} -mätning	Använd 10 mM Tris Cl, pH 7,5, inte vatten, för att späda ut provet innan mätningen av renheten.
--	---

DNA fungerar inte bra i nedströms analyser / applikationer

Överföring (carryover) av etanol	Centrifugering av QIAamp MinElute-kolonner vid full hastighet krävs i 2 steg av proceduren: Under andra tvätten med Buffer AW2 se till att centrifugera i $\geq 8\ 000 \times g$ i 2 minuter vid 15–25 °C för att torka QIAamp MinElute-rotationskolonnens membran. Ta försiktigt bort kolonnen från provtagningsrör efter centrifugeringen så att kolonnen inte kommer i kontakt med den genomflödande vätskan. Placera sedan kolonnen i ett nytt provtagningsrör och centrifugera i full hastighet i 5 minuter. Centrifugering med full hastighet är också nödvändig för att sänka provhalten efter xylen-behandlingen och tvättsteget med etanol.
----------------------------------	--








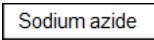


Symboler

Nedanstående symboler finns i användningsinstruktionerna eller på förpackningar och etiketter:

Symbol	Symbolförklaring
 Σ <N>	Innehåller reagens som räcker till <N> reaktioner
	Utgångsdatum
	Den här produkten uppfyller kraven i Europeisk Regel 2017/746 för in vitro-diagnostiska medicintekniska enheter.
	In vitro-diagnostisk medicinteknisk enhet
	Katalognummer
	Lotnummer
	Materialnummer (dvs., komponentetikett)
	Komponenter
	Innehåller
	Antal

Symbol

Symbolförklaring

	Världshandel-artikelnummer (GTI-artikelnummer)
Rn	R betyder revidering av bruksanvisningen och n är revisionsnumret
	Temperaturbegränsning
	Tillverkare
	Läs bruksanvisningen för användning
	Utsätt inte för direkt solljus
	Varning/försiktighet
	Proteinas K
	Natriumazid
	Vid ankomst
	Skriv ner aktuellt datum efter tillsats av etanol i flaskan

Symbol

Symbolförklaring

EtOH	Etanol
ADD	Tillsätta
GuHCl	Guanidinhydroklorid
MALEIC ACID	Maleinsyra
UDI	Unik enhetsidentifierare

Bilaga: Hantering

Allmän hantering

För att undvika kontaminering via hud eller dammig laborieutrustning ska alltid latex- eller vinylhandskar bäras vid hantering av reagenser och prover. Händer och dammpartiklar kan bära på bakterier och mögelsvampar, vilket är de vanligaste orsakerna vid kontaminering. Byt laboriehandskarna ofta och håll provrören stängda. Undvik mikrobiell kontaminering av kittets reagenser.

Plastvaror för engångsbruk

Användning av sterila, kasserbara provrör av polypropylen rekommenderas genom hela proceduren.

Beställningsinformation

Produkt	Innehåll	Kat.nr.
QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit – för rening av genomisk DNA från paraffin-inbäddad vävnad		
QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (50)	För 50 DNA-beredningar: 50 QIAamp MinElute-kolonner, Proteinase K, Bufferts, Tvättrör (2 ml), Elueringsrör (1,5 ml), Lyseringsrör (2 ml)	60404

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i bruksanvisningen till respektive QIAGEN-kit. Bruksanvisningar för QIAGEN-kit finns på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN teknisk service eller din lokala återförsäljare.

Dokumentrevisioner

Revision	Beskrivning
R1, juni 2022	<ul style="list-style-type: none">● Uppdatering till Kit-version 2 för överensstämmelse med IVDR● Uppdatering av Beskrivning och princip sektion● Uppdatering av Material Som Behövs Men Inte Medföljer sektion● Uppdatering av Varningar och försiktighetsåtgärder sektion● Uppdatering av Förvaring och hantering av reagenser sektion● Uppdatering av Felsökning Guide sektion● Uppdatering av Appendix
R2, februari 2023	<ul style="list-style-type: none">● Uppdatering av avsnittet Förvaring och hantering av prov

Begränsat licensavtal för QIAamp DSP DNA Kit

Användning av denna produkt innebär att köpare eller användare av produkten godkänner följande villkor:

1. Produkten får endast användas i enlighet med de protokoll som medföljer produkten och denna handbok och får endast användas med komponenterna som ingår i panelen. QIAGEN ger ingen licens för någon av sina immateriella tillgångar för att använda eller inkludera komponenterna i denna panel med komponenter som inte ingår i denna panel förutom vad som beskrivs i de protokoll som medföljer produkten, denna handbok och ytterligare protokoll som finns på www.qiagen.com. Vissa av de här ytterligare protokollen har tillhandahållits av QIAGEN-användare för andra QIAGEN-användare. Dessa protokoll har inte testats noggrant eller optimerats av QIAGEN. QIAGEN garanterar inte att de inte kränker tredje parts rättigheter.
2. Förutom de uttryckligen angivna licenserna kan QIAGEN inte garantera att denna panel och/eller dess användning inte kränker tredje parts rättigheter.
3. Panelen och dess komponenter är licensierade för engångsbruk och får inte återanvändas, förbättras eller säljas vidare.
4. QIAGEN avsäger sig specifikt ansvar för alla andra licenser, uttryckliga eller underförstådda, förutom de uttryckligen angivna.
5. Köparen och användaren av panelen godkänner att inte tillåta någon annan att utföra något som kan leda till eller orsaka otillåtna situationer beskrivna ovan. QIAGEN kan kräva att detta avtal om begränsad licens upprätthålls i domstol, och ska ersättas för alla undersöknings- och rättegångskostnader, inklusive advokatkostnader, som uppstår vid försök att bestrida detta avtal om begränsad licens eller någon av de immateriella rättigheter som avser panelen och/eller någon av dess komponenter.

För uppdaterade licensvillkor, se www.qiagen.com.

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

Feb-2023 HB-3033-002 1130780SV © 2023 QIAGEN, med ensamrätt.

