




Ytelseskarakteristikk

QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue-sett, Versjon 1 **REF** 60404

Versjonshåndtering

Dette dokumentet er ytelsesegenskaper for QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-sett, versjon 1, R3.

  	Se etter nye elektroniske etikettoppdateringer på www.qiagen.com/HB-0414 før testen utføres. Gjeldende revisjonsstatus er angitt av utstedelsesdatoen (format: måned/år).
---	---

Nedstrømsanalyser

Eluert genomt DNA er klart til bruk i ulike nedstrømsanalyser, inkludert en rekke ulike in vitro-diagnostiske nedstrømsanalyser. Se aktuell QIAGEN-håndbok for mer informasjon om spesifikk systemytelse.

Utvunnet rensed DNA

Fomalinfikserte parafininnstøpte (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE) prøver kan vise høy grad av vevshetrogenitet. I tillegg er vevsoverflaten svært variabel i FFPE-prøver, noe som fører til variable kvanta med ekstrahert DNA. Brukeren bør derfor optimaliseres antallet snitt, snittykkelsen og snittoverflateområdene for sine aktuelle prøver og for alle prosedyrer som brukes i laboratoriet.

Hvis settet brukes sammen med en QIAGEN nedstrømsapplikasjon, se instruksjoner i den aktuelle håndboken.

Utilstrekkelig tørking av vevet under klargjøring av FFPE-vev, ha for mye parafin sammen med vevet i ekstraksjonsrøret, bruk av mindre ren etanol (ikke molecular-biology-grade) enn anbefalt eller forekomst av xylene eller etanol i prøven kan føre til suboptimal ekstraksjon og lavt DNA-kvanta.

Repeterbarhet

Repeterbarheten ble evaluert ved hjelp av seks FFPE-cellelinjer generert fra menneskelige celler fiksert i formalin og innstøpt i parafin. Prøvene ble testet med QuantiTect® SYBR® Green mastermiks og β -aktin genspesifikke primere sammen med Rotor-Gene® Q sanntids PCR-kretser. PCR-reaksjoner ble utført for et 174 bp fragment og for et 218 bp fragment av det menneskelige β -aktingenet.

For den statistiske analysen ble det benyttet 72 datapunkter for hver fragmentstørrelse. Statistiske analyser inkluderte beregningen av standardavviket (standard deviation, SD) og øvre og nedre 95 % tillitsgrenser. Variasjonen ble etablert ved hjelp av komponentavviksanalyser som standardavviket for 218 bp fragment (SD: 0,342 C_T ; nedre 95 % tillitsgrense: 0,291 C_T ; øvre 95 % tillitsgrense: 0,413). Dette kan brukes som et estimat for repeterbarhet for ekstraksjonsprosessen. Variasjonen estimert for 174 bp fragmenter var 0,258 C_T ; nedre 95 % tillitsgrense: 0,220 C_T ; øvre 95 % tillitsgrense: 0,312.

Reproduserbarhet

Evalueringen av reproduserbarheten ble utført i tre laboratorier ved hjelp av kliniske FFPE-prøver bestående av vev fra ikke-småcellet lungekreft (non-small cell lung cancer, NSCLC): en skjulte en delesjon 6223-mutasjon, en skjulte en L858R-mutasjon og en villtype-prøver (wild-type, WT). De kliniske FFPE-prøvene ble valgt på grunnlag av deres kjente mutasjonsstatus i henhold til Sangermetoden for sekvensering.

For hver av de mutante kliniske FFPE-prøvene ble 48 FFPE-snitt randomisert i par for bruk i en ekstraksjon og delt inn i tre batcher, en batch per teststed.

Ekstraksjonen ble utført i duplikat på hvert teststed. Hvert sted brukte et unikt parti med QIAamp FFPE DNA DSP Kit for ekstraksjon. Prøveanalyse og mutasjonsevaluering ble utført ved hjelp av *therascreen* EGFR RGQ PCR Kit på alle tre stedene. Prøvene ble testet over tre ikke etterfølgende dager over en periode på seks dager. Hver prøve ble testet seks ganger på hvert sted, det vil si totalt 18 datapunkter per prøve.

For alle prøvene, på alle tre stedene, ble det påvist 100 % korrekte mutasjoner.

Linearitet

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit kan brukes til isolering av DNA fra forskjellige typer vev. Det bør etableres en lineær kjede basert på kundens behov og valideres i forhold til den spesifikke bruken. Forskjellige lineære serier forventes for forskjellige vevstyper, avhengig av vevet lastet inn i systemet, samt vevskarakteristikken.

Forstyrrende substanser

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit kan brukes til isolering av DNA fra forskjellige typer vev. Potensielt forstyrrende substanser kan stamme fra forskjellige kilder, f.eks. naturlige metabolitter spesifikke for vevstypen og organet, metabolitter produsert under patologiske forhold, substanser introdusert under behandlingen av pasienten eller substanser som pasienten har svelget. På grunn av kompleksiteten i de potensielle forstyrrende substansene og forskjellig sensitivitet i spesifikke nedstrømsapplikasjoner, anbefaler vi at brukerne vurderer effekten av de forstyrrende substansene i dine egne systemer og validerer kontrollmetoden for forstyrrelser i sine spesifikke diagnostiske applikasjoner nedstrøms.

Se håndbøker for mer informasjon om forstyrrende substanser for spesifikke QIAGEN nedstrømsapplikasjoner.

Krysskontaminering

For å vurdere nivået av krysskontaminering, ble det brukt to FFPE-cellelinje NSCLC-prøver: villtype- og FFPE-cellelinjeprøvene skjulte exon 21 L858R-mutasjonen. Studien hadde som mål å imitere situasjon hvor prøver inneholdende et høyt nivå med mutasjoner kan krysskontaminere andre prøver i ekstraksjonsprosessen. DNA-rensing ble gjennomført for å utfordre prosedyren med rensing av DNA fra L858R-mutantprøver plassert ved siden av villtype-prøver, ved hjelp av ett parti med reagenser. Krysskontamineringen ble evaluert ved hjelp av *therascreen*[®] EGFR RGQ PCR Kit. Resultatet viste ingen krysskontaminering i hele systemet.

QIAamp DSP DNA FFPE DNA elueringsytelse i Pyrosequencing[®]

DNA isolert fra FFPE-vev ble fortynnet til en DNA-konsentrasjon på 2 ng/μl for analysering med *therascreen* EGFR Pyro-analysen. I all kjøring brukte for å fastslå ytelseskarakteristikkene, var signalene over 30 RLU (relativt lette enheter) for alle kodoner, og alle prøver hadde et korrekt medisinsk resultat av mutasjonsanalysen.

Eluatstabilitet

Eluatstabilitet vil avhenge av innhold og type av samrønsede urenheter (relatert til vevstype), elueringsvolum og oppbevaringsforhold. Vi anbefaler at brukere etablerer eluatstabiliteten etter egne behov.

Hvis settet brukes sammen med en QIAGEN nedstrømsapplikasjon, se det aktuelle settets håndbok for instruksjoner.

For oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, se den respektive håndboken eller brukerhåndboken for QIAGEN®-settet. Håndbøker og bruksanvisninger for QIAGEN-settet er tilgjengelig på www.qiagen.com eller kan leveres fra QIAGENS tekniske tjenester eller den lokale distributøren.

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

© 2017 QIAGEN, med enerett. 02/2017 HB-0414-D01

Bestilling www.qiagen.com/contact | Teknisk støtte support.qiagen.com | Nettside www.qiagen.com