

RNeasy[®] DSP FFPE Kit 성능 특징

버전 2

IVD

체외 진단용

RNeasy DSP FFPE Kit와 함께 사용

CE

REF

73604



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 독일

R1

성능 특징은 전자적으로 제공되며 www.qiagen.com의 해당 제품 페이지 리소스 탭에서 확인할 수 있습니다.

일반 개론

RNeasy DSP FFPE Kit는 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 조직에서 총 RNA를 수동으로 정제하기 위한 제품입니다.

이 제품은 분자생물학 기법에 대한 교육을 받은 기술자 및 의사와 같은 전문 사용자가 사용해야 합니다. 또한 최적화된 실리카 스핀 컬럼 기반 프로토콜을 사용하고, 잔류 DNA의 효소적 제거를 포함합니다.

RNeasy DSP FFPE Kit는 70개의 뉴클레오티드보다 긴 RNA 분자를 분리하여 RT-PCR 등의 다운스트림 애플리케이션에 사용할 수 있는 RNA 조각을 회복하는 기능을 제공합니다.

정제된 RNA의 수율

RNeasy DSP FFPE Kit의 기본 성능은 서로 다른 5가지 인간 조직(유방, 대장, 폐, 흑색종 암, 정상 피부, 각각 20개의 샘플)에서 채집한 FFPE 샘플을 사용하여 평가했습니다.

FFPE 샘플은 높은 수준의 조직 이질성을 보일 수 있습니다. 또한, 조직 표면 영역은 FFPE 샘플에서 매우 변동적이며, 추출된 RNA 양의 변동성을 초래합니다. 따라서, 사용자는 실험실에서 사용되는 모든 다운스트림 공정 및 관심 대상 샘플에 대해 절편 수, 절편 두께, 절편 표면 영역을 최적화해야 합니다.

키트를 QIAGEN® 다운스트림 애플리케이션과 함께 사용하는 경우, 관련 안내서의 지침을 참고하십시오.

FFPE 조직 준비 시 조직을 충분히 탈수하지 않거나, 추출 튜브의 샘플에 너무 많은 파라핀을 첨가하거나, 권장되는 것보다 낮은 순도의 에탄올(분자 생물학 등급이 아님)을 사용하거나, 샘플 내에 에탄올을 함유하고 있으면 추출이 최적의 방법으로 이루어지지 않고 RNA 품질 또는 다운스트림 성능이 저하될 수 있습니다.

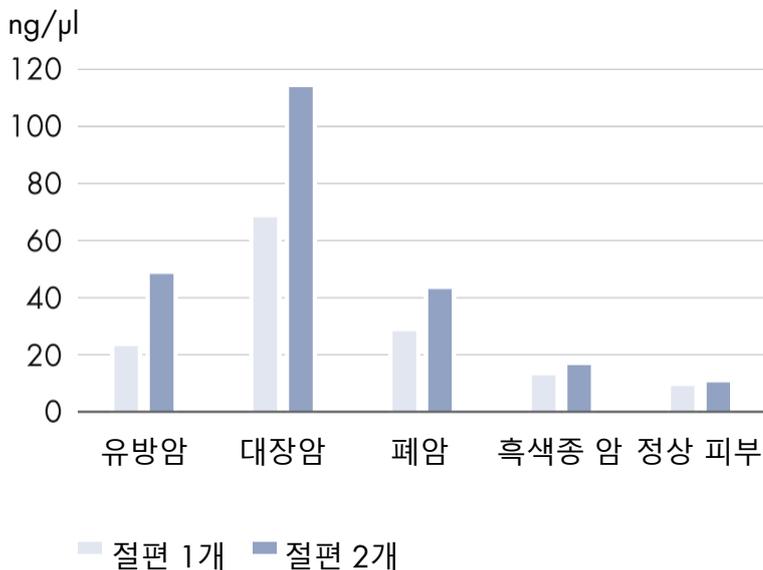


그림 1. 다양한 인간 조직의 RNA 수율(용출량 32µl).

다운스트림 분석

용출된 RNA는 다운스트림 분석에 사용하도록 준비되었습니다. 성능을 분석하기 위해 RNeasy DSP FFPE Kit를 사용하여 서로 다른 5가지 인간 조직(유방, 대장, 폐, 흑색종 암, 정상 피부, 각각 20개의 샘플)에서 RNA 10ng을 분리한 후 인간의 β -액틴 유전자를 표적으로 RT-PCR을 사용하여 검증했습니다. 증폭에 성공하여 RNeasy DSP FFPE Kit로 분리한 RNA를 다운스트림 분석에 사용할 수 있는 것으로 나타났습니다.

사용자는 실험실에서 사용되는 모든 후속 공정 및 관심 대상 샘플에 대해 절편 수, 절편 두께, 절편 표면 영역을 최적화하거나 관련 다운스트림 분석의 특정 성능을 참고해야 합니다.

	유방암	대장암	폐암	흑색종 암	정상 피부
RT-PCR 절편 1개	✓	✓	✓	✓	✓
RT-PCR 절편 2개	✓	✓	✓	✓	✓

그림 2. 서로 다른 다섯 가지 인간 조직에 대해 파생된 FFPE 절편 10 μ m의 RT-PCR 증폭을 성공적으로 검사함.

용출액 안정성

용출액 안정성은 공동 정제 불순물(조직 유형과 관련됨)의 함량과 유형, 용출량, 보관 조건에 따라 다릅니다. 특정 요구 사항에 필요한 경우 용출액 안정성을 입증하는 것이 좋습니다.

용출액 안정성은 -15°C에서 -30°C 및 -60°C에서 -90°C에서 보관한 FFPE 유래 인간 RNA 샘플에 대해 검사했습니다. 최대 12주 동안 열화가 관찰되지 않았으며 실온(18-25°C)에서 보관한 용출액은 최대 12시간 동안 안정적이었습니다. 모든 조건은 인간의 β -액틴 유전자를 표적으로 하는 RT-PCR을 사용하여 평가했습니다.

키트를 QIAGEN 다운스트림 애플리케이션과 함께 사용하는 경우, 관련 키트 안내서의 지침을 참고하십시오.

반복성

반복성은 유핵 인간 혈액 세포의 FFPE 샘플을 사용하여 평가했습니다. 해당 샘플은 ABI® 7900 real-time PCR 사이클러에서 인간의 β -액틴 유전자 절편 295bp에 대해 내부적으로 검증된 분석을 사용하여 검사했습니다.

통계 분석의 경우 추출 배치 세 개(동일한 키트 로트, 작업자, 날짜)의 데이터 포인트 108개가 사용되었습니다. 통계 분석에는 β -액틴 RT-PCR에서 파생된 C_T 값의 표준 편차 및 변동 계수 계산이 포함되었습니다. 표준 편차는 1.1 C_T , 변동 계수는 4.1%였습니다(표 1).

표 1. 반복성 결과

	반복성		
	평균 C _T	SD	CV(%)
배치 1	26.64	1.01	3.81
배치 2	27.51	1.16	4.2
배치 3	27.23	0.95	3.5
배치 1 + 2 + 3	27.13	1.11	4.07

재현성

재현성은 다른 작업자, 다른 날짜, 다른 날짜 및 다른 작업자로 유핵 인간 혈액 세포의 FFPE 샘플에서 RNA 추출을 평가하여 측정했습니다. 해당 샘플은 ABI 7900 real-time PCR 사이클러에서 인간의 β-액틴 유전자 절편 295bp에 대해 내부적으로 검증된 분석을 사용하여 검사했습니다. 통계 분석의 경우 각 검사 설정에 추출 배치 세 개의 데이터 포인트 108개가 사용되었습니다. 통계 분석에는 β-액틴 RT-PCR에서 파생된 C_T 값의 표준 편차 및 변동 계수 계산이 포함되었습니다(표 2).

표 2. 재현성 결과

	반복성		
	평균 C _T	SD	CV(%)
다른 작업자	26.92	1.06	3.95
다른 날짜	26.56	1.20	4.53
다른 날짜 및 다른 작업자	26.63	1.01	3.78

샘플 투입의 선형성

RNeasy DSP FFPE Kit는 여러 FFPE 조직 유형으로부터 RNA를 분리하는 데 사용할 수 있습니다. 해당 시스템은 FFPE 유핵 인간 혈액 세포의 절편 1-4개를 사용하여 검증했으며 RNA 수율에서 선형 증가가 나타났습니다. 선형 범위는 고객 요구 사항에 따라 입증하고 특정 용도에 대해 검증해야 합니다. 다른 조직 유형에 대해서는 다른 선형 범위가 예상되며, 이는 시스템으로의 조직 로드, 조직 특성과 다운스트림 분석에 따라 다릅니다.

간섭 물질

잠재적 간섭 물질은 여러 원인에 기인할 수 있습니다. 예를 들어, 조직 유형 및 장기에 특정한 천연 대사물질, 병리학적 상태에서 생성되는 대사물질, 환자 치료 중 유입되는 물질 또는 환자가 섭취한 물질 등이 있습니다. 잠재적 간섭 물질의 복잡성과 특정 다운스트림 애플리케이션에 대한 여러 다른 민감도로 인해, 사용자가 간섭 물질이 해당 시스템에 미치는 영향을 평가하고 특정 진단 다운스트림 애플리케이션에서의 간섭 제어 방법을 검증할 것을 권장합니다.

샘플 처리 및 RNA 추출 과정 중 RNeasy DSP FFPE Kit 구성 요소에서 파생된 간섭 물질이 관찰되지 않았습니다.

특정 QIAGEN 다운스트림 애플리케이션에서의 간섭 물질에 대한 자세한 정보는 키트 안내서를 참고하십시오.

교차 오염

교차 오염 수준을 평가하기 위해 혈액에서 총 RNA 500ng을 파라핀 제거 용액에 첨가하고 RNA가 들어 있지 않은 튜브 가까이에서 분리했습니다(추출 음성 튜브). 이 검사는 고농도의 RNA 표적 분자를 포함하는 샘플이 추출 과정에서 다른 샘플과 교차 오염을 일으킬 수 있는 상황을 모방하는 것이 목적입니다. 한 가지 로트의 시약을 사용하여 RNA 정제를 수행하였습니다. 교차 오염은 인간의 β -액틴 유전자를 표적으로 하는 RT-PCR을 사용하여 평가했습니다. 전체 시스템에서 교차 오염이 없다는 결과가 나왔습니다.

기호

사용 지침 또는 포장물 및 라벨에 다음과 같은 기호가 표시됩니다.

기호	기호 정의
	<N>회 반응에 충분한 시약 포함
	사용 기한
	이 제품은 체외 진단 의료 기기에 대한 유럽 규정 2017/746의 요구 사항을 충족합니다.
	체외 진단용 의료 기기
	도착 시
	DN
	RNeasy MinElute Spin
	카탈로그 번호
	로트 번호
	재료 번호(즉, 구성 요소 라벨링)
	구성품(즉 내용물 목록)
	내용물
	번호(즉, 바이알, 병)
	국제 거래 단위 번호
Rn	R은 사용 지침(안내서)의 개정 버전을 나타내며, n은 개정 번호임
	온도 제한
	제조업체
	사용 설명서 참조
	주의

기호

기호 정의

PROTK

Proteinase K

Sodium azide

아지드화 나트륨

UDI

의료기기 고유식별코드

문서 개정 이력

개정판

설명

R1, 2022년 6월

IVDR 출하 승인

최신 라이선스 정보 및 제품별 면책 사항은 각 QIAGEN 키트 안내서 또는 사용 설명서를 참조하십시오. QIAGEN 키트 안내서와 사용 설명서는 www.qiagen.com에서 확인하거나 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 요청할 수 있습니다.

상표: QIAGEN®, Sample to Insight®, RNeasy®(QIAGEN 그룹), ABI®(Life Technologies Corporation). 이 문서에 사용된 등록된 이름, 상표 등은 별도로 표시되지 않은 경우에도 법적 보호를 받는 것으로 간주됩니다.

06/2022 HB-3027-D01-001 © 2022 QIAGEN, 모든 권리 보유.

