



2022 年 6 月

# RNeasy<sup>®</sup> DSP FFPE Kit 性能特点

第 2 版



供体外诊断使用

与 RNeasy DSP FFPE Kit 配套使用



73604



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 德国

R1

性能特点提供电子版，可以在 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 产品页面的“资源”标签下找到

## 一般说明

RNeasy DSP FFPE Kit 用于从福尔马林固定和石蜡包埋 (Formalin-Fixed, Paraffin Embedded) 处理后的组织中手动纯化总 RNA。

该产品旨在供专业用户使用，例如，在分子生物技术方面经过培训的技术员和医师。它采用了经优化的硅胶离心柱方案，并通过酶法去除 DNA 残留。

RNeasy DSP FFPE Kit 可分离大于 70 个核苷酸的 RNA 分子，为 RT-PCR 等下游应用回收可使用的 RNA 片段。

## 纯化 RNA 产量

使用来自 5 种不同人体组织（乳腺癌、结肠癌、肺癌、黑色素瘤和正常皮肤；每种 20 个样本）的 FFPE 样本对 RNeasy DSP FFPE Kit 的基本性能进行了评价。

FFPE 样本可能表现出高度的组织异质性。此外，FFPE 样本中的组织表面积具有很大差异性，这会导致提取的 RNA 数量不同。因此，用户应该优化目标样本的切片数量、切片厚度和切片表面积以及其实验室使用的任何下游步骤。

如果将试剂盒与 QIAGEN® 下游应用配合使用，请参阅相关的说明手册。

FFPE 组织制备过程中组织脱水不足、在样本提取管中加入过多石蜡、使用低于推荐纯度的乙醇（非分子生物级）或在样本中保留乙醇可能导致提取效果不佳和 RNA 数量偏低，或下游性能降低。

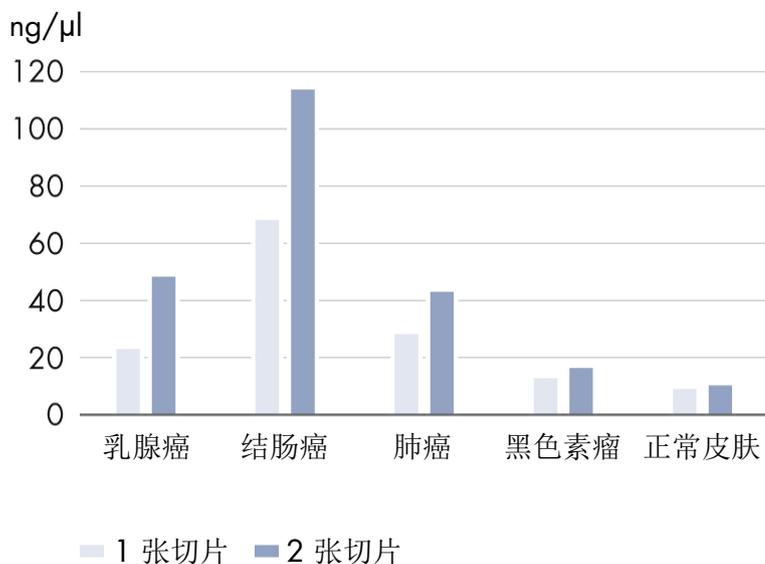


图 1. 不同人体组织的 RNA 产量 (32 μl 洗脱体积)。

## 下游分析

洗脱的 RNA 可用于下游检测。为了评价性能，使用 RNeasy DSP FFPE Kit 从 5 种不同人体组织（乳腺癌、结肠癌、肺癌、黑色素瘤和正常皮肤；20 个样本，包括一张或两张切片）中分离出 10 ng RNA，并以人类  $\beta$ -肌动蛋白基因为目标使用 RT-PCR 进行了验证。扩增成功，表明使用 RNeasy DSP FFPE Kit 分离的 RNA 可用于下游分析。

用户应优化目标样本的切片数量、切片厚度和切片表面积以及其实验室使用的任何后续步骤，或参阅相关下游检测的具体性能。

	乳腺癌	结肠癌	肺癌	黑色素瘤	正常皮肤
RT-PCR 1 张切片	✓	✓	✓	✓	✓
RT-PCR 2 张切片	✓	✓	✓	✓	✓

图 2. 对来自五种不同待测人体组织的 10  $\mu$ m FFPE 切片成功进行 RT-PCR 扩增。

## 洗脱液稳定性

洗脱液稳定性取决于共纯化杂质的含量和类型（与组织类型有关）、洗脱体积以及存储条件。我们建议用户根据自身的具体要求建立洗脱液稳定性。

对在 -15 至 -30° C 和 -60 至 -90° C 条件下储存的 FFPE 人类 RNA 样本进行了洗脱液稳定性测试。经过长达 12 周的观察，未出现任何性能下降，在室温 (18 - 25° C) 下储存的洗脱液可保持稳定长达 12 小时。所有条件均以人类  $\beta$ -肌动蛋白基因为目标采用 RT-PCR 进行了评估。

如果将试剂盒与 QIAGEN 下游应用配合使用，请参阅相关的试剂盒说明手册。

## 重复性

使用人类有核血细胞的 FFPE 样本对重复性进行了评价。在 ABI® 7900 real-time PCR 循环仪上，使用对人类  $\beta$ -肌动蛋白基因的 295 bp 片段进行过内部验证的检测，对样本进行了测试。

对于统计分析，使用了来自三个提取批次（相同的试剂盒批次、操作员和日期）的 108 个数据点。统计分析包括计算源自  $\beta$ -肌动蛋白 RT-PCR 的  $C_T$  值的标准差 (SD) 和变异系数 (CV)。SD 为 1.1  $C_T$ ，CV 为 4.1%（表 1）。

表 1. 重复性结果

	重复性		
	均值 $C_T$	SD	CV (%)
第 1 批	26.64	1.01	3.81
第 2 批	27.51	1.16	4.2
第 3 批	27.23	0.95	3.5
第 1 + 2 + 3 批	27.13	1.11	4.07

## 再现性

通过使用不同的操作员、不同的日期以及不同的操作员和日期评估人类有核血细胞 FFPE 样本的 RNA 提取情况，对再现性进行了评估。在 ABI 7900 real-time PCR 循环仪上，使用对人类  $\beta$ -肌动蛋白基因的 295 bp 片段进行过内部验证的检测，对样本进行了测试。对于统计分析，每种检验条件均使用了来自三个提取批次的 108 个数据点。统计分析包括计算源自  $\beta$ -肌动蛋白 RT-PCR 的  $C_T$  值的 SD 和变异系数 (CV) (表 2)。

表 2.再现性结果

	重复性		
	均值 $C_T$	SD	CV (%)
不同操作员	26.92	1.06	3.95
不同日期	26.56	1.20	4.53
不同操作员和日期	26.63	1.01	3.78

## 样本输入的线性

RNeasy DSP FFPE Kit 可用于从不同的 FFPE 组织类型中分离 RNA。使用 1-4 张 FFPE 人类有核血细胞切片对该系统进行了验证，结果显示 RNA 产量呈线性增加。应根据客户要求建立线性范围，并针对特定用途进行验证。对于不同的组织类型，预计会有不同的线性范围，具体取决于系统中的组织上样量，以及组织特征和下游检测。

## 干扰性物质

潜在干扰性物质可能来自不同来源，例如特定组织类型和器官的天然代谢物、病理条件下产生的代谢物、患者治疗期间产生的物质或患者摄入的物质。因为潜在干扰性物质的复杂性和特定下游应用不同的灵敏度，我们建议用户对自己的系统评估干扰性物质的影响，并对特定诊断性下游应用中用于控制干扰的方法进行验证。

在样本处理和 RNA 提取过程中，未观察到来自 RNeasy DSP FFPE Kit 组件的干扰性物质。

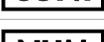
有关特定 QIAGEN 下游应用的干扰性物质的更多信息，请参阅试剂盒手册。

## 交叉污染

为了评估交叉污染水平，将来自血液的 500 ng 总 RNA 加入脱蜡溶液中，并邻近于不含 RNA 的试管（提取阴性试管）进行分离。研究的目的是在模仿以下情况：在提取过程中，含有高水平 RNA 靶分子的样本可能会对其他样本产生交叉污染。使用一个批次的试剂进行了 RNA 纯化。以人类  $\beta$ -肌动蛋白基因为目标采用 RT-PCR 对交叉污染进行了评估。结果显示，整个系统没有交叉污染。

# 符号

使用说明或包装和标签上会出现下列符号：

符号	符号定义
	包含足够进行 <N> 次反应的试剂
	有效期
	本产品符合体外诊断医疗器械法规 (EU) 2017/746 的要求。
	体外诊断医疗器械
	到达时
	DN
	RNeasy MinElute Spin
	目录编号
	批号
	材料编号（即，组件标签）
	组件（即，所含内容清单）
	所含物（内容）
	编号（即，小瓶、试剂瓶）
	全球贸易项目代码
Rn	R 表示使用说明（手册）为修订版，n 为修订版本号
	温度限制
	制造商
	参考使用说明
	警示

符号

符号定义

**PROTK**

蛋白酶 K

Sodium azide

叠氮化钠

**UDI**

唯一设备标识符

# 文档修订历史

## 修订版本

## 说明

R1, 2022 年 6 月

IVDR 发布

有关最新许可信息以及产品特定免责声明，请参阅相应的 QIAGEN 试剂盒手册或用户手册。QIAGEN 试剂盒手册和用户手册可从 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 或 QIAGEN 技术服务部门以及您当地的经销商处获得。

商标：QIAGEN®、Sample to Insight®、RNeasy® (QIAGEN Group)；ABI® (Life Technologies Corporation)。本文中使用的注册名称、商标等，即便未专门标记，也不得视为不受法律保护。  
06/2022 HB-3027-D01-001 © 2022 QIAGEN。保留所有权利。

