



Juni 2022

RNeasy[®] DSP FFPE Kit Ytelsesegenskaper

Versjon 2



Til in vitro-diagnostisk bruk

Til bruk sammen med RNeasy DSP FFPE Kit



73604



R1

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

Ytelsesegenskaper er tilgjengelig elektronisk, og du finner de under fanen for ressurser på produktsiden til www.qiagen.com

Generell innledning

RNeasy DSP FFPE Kit er beregnet på manuell rensing av totalt RNA fra formalinfikserte, parafininnstøpte (Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded FFPE) vev.

Produktet er beregnet for bruk av profesjonelle brukere, for eksempel teknikere og leger som har fått opplæring i molekylærbiologiske teknikker. Det bruker en optimalisert silika-spinnkolonnebasert protokoll og inkluderer enzymatisk fjerning av rest-DNA.

RNeasy DSP FFPE Kit isolerer RNA-molekyler som er lengre enn 70 nukleotider, og gir gjenfinning av anvendelige RNA-fragmenter for nedstrømsapplikasjoner som RT-PCR.

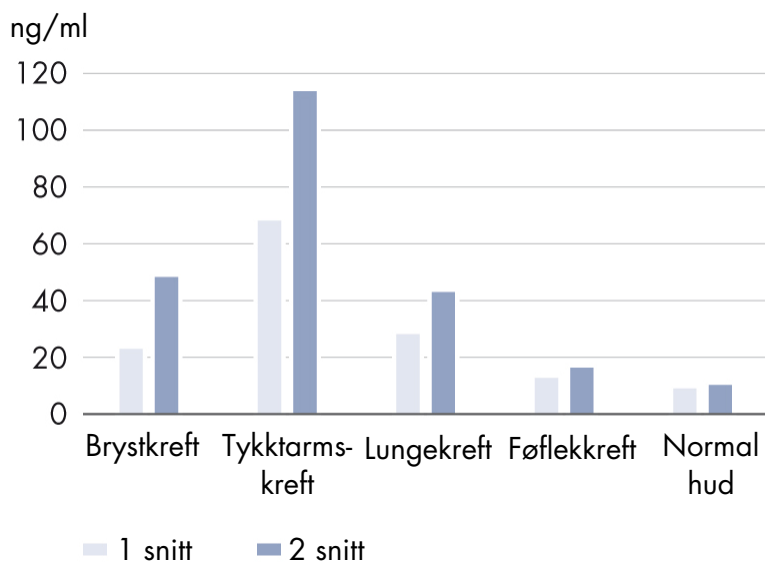
Utbytte av rensset RNA

Den grunnleggende ytelsen til RNeasy DSP FFPE Kit ble evaluert ved hjelp av FFPE-prøver fra 5 forskjellige humane vev (20 prøver hver av brystkreft, tykktarmskreft, lungekreft, føflekkreft og normal hud).

FFPE-prøver kan vise en høy grad av vevsheterogenitet. I tillegg er vevsoverflatearealet svært variabelt i FFPE-prøver, noe som fører til varierende mengde ekstrahert RNA. Brukeren bør derfor optimalisere antall snitt, snittykkelsen og snittoverflaten for prøvene av interesse og eventuelle nedstrømsprosedyrer som brukes i laboratoriet.

Hvis settet brukes sammen med en QIAGEN®-nedstrømsapplikasjon, se den relevante håndboken for instruksjoner.

Utilstrekkelig vevsut tørking under FFPE-vevsklargjøring, tilsetning av for mye parafin med prøven i ekstraksjonsrøret, bruk av etanol med lavere renhet (ikke av molekylærbiologisk kvalitet) enn anbefalt, eller retensjon av etanol i prøven kan føre til suboptimal ekstraksjon og lav RNA-mengde eller redusert nedstrømsytelse.



Figur 1. RNA-utbytte fra forskjellige humane vev (32 µl elusjonsvolum).

Nedstrømsanalyse

Eluert RNA er klart til bruk i nedstrømsanalyser. For å evaluere ytelsen ble 10 ng RNA isolert med RNeasy DSP FFPE Kit fra 5 forskjellige humane vev (20 prøver bestående av ett eller to snitt av brystkreft, tykktarmskreft, lungekreft, føflekkreft og normal hud) og validert ved hjelp av RT-PCR rettet mot det humane β -aktin-genet. Amplifikasjonen var vellykket, noe som viser at RNA isolert med RNeasy DSP FFPE Kit kan brukes til nedstrømsanalyse.

Brukeren bør optimalisere antall snitt, snittykkelsen og snittoverflatearealet for prøven av interesse og eventuelle etterfølgende prosedyrer som brukes i laboratoriet, eller se den spesifikke ytelsen for den relevante nedstrømsanalysen.

	Brystkreft	Tykktarmskreft	Lungekreft	Føflekkreft	Normal hud
RT-PCR 1 snitt	✓	✓	✓	✓	✓
RT-PCR 2 snitt	✓	✓	✓	✓	✓

Figur 2. Vellykket RT-PCR-amplifikasjon av 10 μ m FFPE-snitt fra fem ulike testede humane vev.

Eluatstabilitet

Eluatstabilitet vil avhenge av innholdet og typen samtidig rensede urenheter (relatert til vevstype), elusjonsvolum og oppbevaringsforhold. Vi anbefaler at brukerne etablerer eluatstabiliteten etter behov for de spesifikke kravene de har.

Eluatstabiliteten ble testet for FFPE-avledede humane RNA-prøver lagret ved -15 til -30 °C og -60 til -90 °C. Ingen forringelse ble observert i opptil 12 uker, og eluater lagret ved romtemperatur (18 – 25 °C) var stabile i opptil 12 timer. Alle forhold ble vurdert ved bruk av RT-PCR rettet mot det humane β -aktin-genet.

Hvis settet brukes sammen med QIAGEN-nedstrømsapplikasjoner, se det relevante settets håndbok for instruksjoner.

Repeterbarhet

Repeterbarheten ble evaluert ved hjelp av FFPE-prøver av kjerneholdige humane blodceller. Prøvene ble testet med en internt validert analyse for et 295 bp-fragment av det humane β -aktin-genet på en ABI® 7900 real-time PCR-termosykler.

Til statistisk analyse ble det brukt 108 datapunkter fra tre ekstraksjonspartier (samme settlot, operatør og dag). Den statistiske analysen omfattet beregning av standardavviket (SD) og variasjonskoeffisienten (VK) for C_T -verdiene utledet fra β -aktin-RT-PCR. SD var 1,1 C_T , og VK var 4,1 % (tabell 1).

Tabell 1. Resultater for repeterbarhet

	Repeterbarhet		
	Gj.sn. C _T	SD	VK (%)
Parti 1	26,64	1,01	3,81
Parti 2	27,51	1,16	4,2
Parti 3	27,23	0,95	3,5
Parti 1 + 2 + 3	27,13	1,11	4,07

Reproduserbarhet

Reproduserbarhet ble utført ved å vurdere RNA-ekstraksjoner fra FFPE-prøver av kjerneholdige humane blodceller med ulike operatører, på ulike dager og ulike operatører og dager. Prøvene ble testet med en internt validert analyse for et 295 bp-fragment av det humane β -aktin-genet på en ABI 7900 real-time PCR-termsyklus. Til statistisk analyse ble det brukt 108 datapunkter fra tre ekstraksjonspartier for hver testsituasjon. Den statistiske analysen omfattet beregning av SD og variasjonskoeffisienten (VK) for C_T-verdier utledet fra β -aktin-RT-PCR (tabell 2).

Tabell 2. Resultater for reproduserbarhet

	Repeterbarhet		
	Gj.sn. C _T	SD	VK (%)
Ulike operatører	26,92	1,06	3,95
Ulike dager	26,56	1,20	4,53
Ulike operatører og dager	26,63	1,01	3,78

Linearitet for prøvevolum

RNeasy DSP FFPE Kit kan brukes til isolering av RNA fra forskjellige FFPE-vevstyper. Systemet ble validert for bruk av 1–4 FFPE-snitt av kjerneholdige humane blodceller og viste en lineær økning i RNA-utbytte. Et lineært område bør etableres i henhold til kundens krav og valideres for den spesielle bruken. Ulike lineære områder forventes for forskjellige vevstyper, avhengig av vevsbelastningen i systemet, samt vevs karakteristikk og nedstrømsanalyser.

Interfererende stoffer

Potensielt interfererende stoffer kan stamme fra forskjellige kilder, f.eks. naturlige metabolitter som er spesifikke for vevstypen og organet, metabolitter produsert under patologiske tilstander, stoffer introdusert under pasientbehandling eller stoffer som pasienten har inntatt. På grunn av kompleksiteten til potensielle interfererende stoffer og ulik sensitivitet for spesifikke nedstrømsapplikasjoner, anbefaler vi at brukerne vurderer effekten av de interfererende stoffene for egne systemer og validerer en metode for å kontrollere interferens i den spesifikke diagnostiske nedstrømsapplikasjon.

Det ble ikke observert interfererende stoffer fra komponenter i RNeasy DSP FFPE Kit under prøvebehandling og RNA-ekstraksjon.



















For mer informasjon om interfererende stoffer i spesifikke QIAGEN-nedstrømsapplikasjoner, se håndbøkene for settet.

Krysskontaminering

For å vurdere graden av krysskontaminering ble 500 ng totalt RNA fra blod tilsatt i Deparaffinization Solution og isolert ved siden av rør som ikke inneholdt RNA (ekstraksjonsnegative rør). Studien hadde som mål å etterligne situasjonen der prøver som inneholder et høyt nivå av mål molekyler med RNA, kan krysskontaminere andre prøver under ekstraksjonsprosedyren. RNA-rensing ble utført ved bruk av en mengde reagenser. Krysskontaminering ble vurdert ved bruk av RT-PCR rettet mot det humane β -aktin-genet. Resultatene viste ingen krysskontaminering i hele systemet.

Symboler

Følgende symboler vises i bruksanvisningen eller på emballasjen og etiketter:

Symbol	Symbolforklaring
	Inneholder reagenser som er tilstrekkelig til <N> reaksjoner
	Siste forbruksdato
	Dette produktet oppfyller kravene i den europeiske bestemmelsen 2017/746 for in vitro-diagnostiske medisinske enheter.
	In vitro-diagnostisk medisinsk enhet
	Ved ankomst
	DN
	RNeasy MinElute Spin
	Katalognummer
	Partinummer
	Materialnummer (dvs. komponentmerking)
	Komponenter (dvs. en liste over hva som er inkludert)
	Inneholder (innhold)
	Antall (dvs. hetteglass, flasker)
	Globalt handelsvarenummer
Rn	R står for revisjon av bruksanvisningen (håndboken), og n er revisjonsnummeret
	Temperaturbegrensning
	Produsent
	Se bruksanvisningen
	Forsiktig

Symbol	Symbolförklaring
PROTK	Proteinase K
Sodium azide	Natriumazid
UDI	Entydig utstyrsidentifikator

Revisjonshistorikk for dokument

Revisjon

Beskrivelse

R1, juni 2022

IVDR-utgave

Oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser finnes i håndboken eller brukerhåndboken for det aktuelle QIAGEN-settet. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN-sett er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan fås på forespørsel fra QIAGENs tekniske serviceavdeling eller den lokale distributøren.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, RNeasy® (QIAGEN Group); ABI® (Life Technologies Corporation). Registrerte navn, varemerker, osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke anses som ubeskyttet ved lov, selv når de ikke er spesielt merket som sådan.

06/2022 HB-3027-D01-001 © 2022 QIAGEN. Med enerett.

