

Şubat 2017

# QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue Kiti El Kitabı



Sürüm 1

**IVD**

İn vitro tanı amaçlı kullanım için

**CE**

**REF**

60404



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,  
ALMANYA

R3 **MAT**

1062689TR



# İçindekiler

Kullanım Amacı .....	5
Özet ve Açıklama .....	5
Prosedür Prensipleri .....	6
Sağlanan Materyaller .....	8
Kit içeriği .....	8
Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Materyaller .....	9
Uyarılar ve Önlemler .....	10
Reaktif Saklama ve Kullanma .....	11
Örnek Kullanımı ve Saklama .....	12
Prosedür .....	13
Tamponların hazırlanması .....	14
Başlangıç materyali .....	15
Çapraz kontaminasyonu önlemeye yönelik kullanım prosedürü .....	15
Santrifügasyon .....	16
QIAamp MinElute kolonlarının mikrosantrifüjde işlenmesi .....	17
Saflaştırılmış DNA elüsyonu .....	17
Protokol: FFPE Doku Kesitlerinden Genomik DNA İzolasyonu .....	19
Kalite Kontrol .....	23
Sınırlamalar .....	23
Performans Özellikleri .....	24
Semboller .....	24
İletişim Bilgileri .....	25
Sipariş Bilgileri .....	26



# Kullanım Amacı

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kiti, formalinle fikse edilmiş, parafine gömülmüş (formalin-fixed, paraffin-embedded, FFPE) biyolojik örneklerden genomik DNA izolasyonu ve saflaştırması için silika-membran teknolojisini (QIAamp teknolojisi) kullanan bir sistemdir.

Ürünün in vitro diagnostik (IVD) amaçlara yönelik moleküler biyoloji teknikleri konusunda eğitimli teknisyenler ve hekimler gibi profesyonel kullanıcılar tarafından kullanılması amaçlanmıştır; ürün manuel numune hazırlama amaçları için tasarlanmıştır ve kantitatif veya kantitatif test sonucu vermez.

## Özet ve Açıklama

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kiti, FFPE doku kesitlerinden DNA saflaştırmak için kullanılır. Küçük numune hacimleri veya örneklem büyüklüklerinden genomik ve mitokondriyal DNA saflaştırması için iyi bilinen QIAamp DNA Micro teknolojisini kullanır. Bu kit, silika bazlı membranın seçici bağlanma özelliklerini esnek elüsyon hacimleri ile birleştirir.

Lizis koşulları, gece boyu inkübasyon gerekmeden genomik DNA'nın FFPE doku kesitlerinden etkili biçimde saflaştırılmasını sağlar. Proteinaz K sindiriminden sonra daha yüksek sıcaklıkta inkübasyon, serbest kalan DNA'nın formaline çapraz bağlanmasını kısmen ortadan kaldırarak, aşağı yönde miktar tayinlerinde DNA performansının yanı sıra verimi de potansiyel olarak iyileştirir. FFPE numunelerinden izole edilen DNA'nın, taze veya dondurulmuş numunelerden alınan DNA'dan genellikle daha düşük moleküler ağırlığa sahip olduğu dikkate alınmalıdır. Fragmentasyon derecesi, numune tipi ve yaşı ile fiksasyon için kullanılan koşullara bağlıdır.

Numune lizisinden sonra, kolay QIAamp DSP DNA FFPE Tissue prosedürü birden fazla numunenin eşzamanlı işlenmesi için uygundur.

---

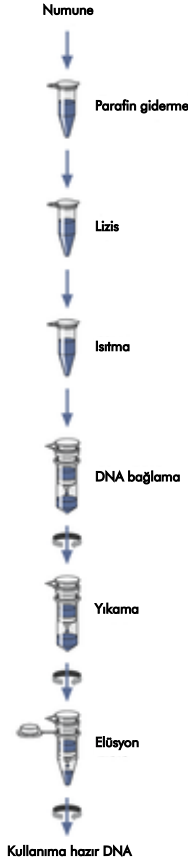
Laboratuvarlarında el kitabında açıklanan QIAGEN performans çalışmalarının kapsamında olmadan kullanılan herhangi bir işlem için sistem performansını doğrulamak kullanıcının sorumluluğundadır.

## Prosedür Prensipleri

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue prosedürü altı adımdan oluşur (Şekil 1):

- Parafin giderme: Parafin ksilen içinde çözülerek giderilir
- Lizis: Numune, Proteinaz K ile denatüre edici koşullar altında 56°C'de lizise tabi tutulur
- Isıtma: 90°C'de inkübasyon, formaline çapraz bağlanmayı tersine çevirir
- Bağlama: DNA, membrana bağlanır ve kontaminantlar akışa geçer
- Yıkama: Kalıntı kontaminantlar yıkanarak giderilir
- Elüsyon: Saf, konsantre DNA membrandan elüe edilir

## QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Procedure



Şekil 1. QIAamp DSP DNA FFPE Tissue prosedürü.

# Sağlanan Materyaller

## Kit içeriği

<b>QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit</b>			<b>(50)</b>
<b>Katalog no.</b>			<b>60404</b>
<b>Reaksiyon sayısı</b>			<b>50</b>
QIAamp MinElute®	QIAamp MinElute Columns with Wash Tubes (QIAamp MinElute Kolon ve Yıkama Tüpleri)	COL	50
WT	Wash Tubes (Yıkama Tüpleri) (2 ml)	WASH TUBE	3 x 50
ET	Elution Tubes (Elüsyon Tüpleri) (1,5 ml)	ELU TUBE	50
LT	Lysis Tubes (Lizis Tüpleri) (2 ml)	LYS TUBE	50
ATL	Tissue Lysis Buffer (Doku Lizis Tamponu)	TIS LYS BUF	10 ml
AL	Lysis Buffer* (Lizis Tamponu)	LYS BUF	12 ml
AW1	Wash Buffer 1* (Yıkama Tamponu 1, konsantre)	WASH BUF 1 CONC	19 ml
AW2	Wash Buffer 2† (Yıkama Tamponu 2, konsantre)	WASH BUF 2 CONC	13 ml
ATE	Elution Buffer† (Elüsyon Tamponu)	ELU BUF	12 ml
PK	Proteinase K (Proteinaz K)	PROTK	1,25 ml
-	Kullanma Talimatı (El Kitabı)	HB	1

\* Bir guanidin tuzu içerir. Çamaşır suyu içeren dezenfektanlarla uyumlu değildir. Uyarılar ve önlemler için bkz. sayfa 10.

† Koruyucu madde olarak sodyum azit içerir.



# Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Materyaller

Kimyasallar ile çalışırken, her zaman uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için, ürün sağlayıcısından edinebileceğiniz, uygun güvenlik veri sayfalarına (safety data sheets, SDS'ler) başvurun.

## Reaktifler

- Ksilen
- Etanol (%96–100)\*

## Sarf Malzemeleri

- Kit içinde verilen tüpleri kullanmama kararı verilirse 1,5 ml veya 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpleri (lizis adımları için) ve 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpleri (elüsyon adımları için) (Eppendorf® [Safe-Lock: kat. no. 022363204, ABD; kat. no. 0030 120.086, Avrupa], veya Sarstedt [kat. no. 72.690]) tavsiye edilir. DNaz/RNaz içermeyen, emniyet kapaklı konik şekilli tüpler tavsiye edilir.
- Pipetler ve pipet uçları (çapraz kontaminasyonu önlemek için aerosol bariyerli pipet uçları kesinlikle tavsiye edilir)

## Ekipman

- Termomikser†, ısıtılabilir orbital inkübatör, ısıtma bloğu veya 56°C, 70°C ve 90°C'de inkübasyon sağlayabilen su banyosu
- 2 ml'lik tüpler için rotora sahip mikrosantrifüj†
- Vorteksleyici

\* Metanol veya metiletilketon gibi diğer kimyasal maddeleri içeren denatüre alkol kullanmayın.

† Numunelerin QIAamp DSP DNA FFPE prosedürlerinde uygun şekilde işlendiğinden emin olmak için, aletlerin üreticilerin tavsiyelerine göre kalibre edilmesi kesinlikle tavsiye edilir.

# Uyarılar ve Önlemler

İn vitro tanı amaçlı kullanım için

Kimyasallar ile çalışırken, her zaman uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için lütfen ürün sağlayıcısından edinebileceğiniz, uygun güvenlik veri sayfalarına (SDS'ler) başvurun. Bunlar, her bir QIAGEN® kiti ve kit bileşenlerine ait SDS'yi bulabileceğiniz, görüntüleyebileceğiniz ve yazdırabileceğiniz [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) adresinde çevrimiçi olarak uygun ve kompakt PDF biçiminde mevcuttur.



**DİKKAT: Numune hazırlama atığına doğrudan çamaşır suyu veya asidik çözeltiler EKLEMİYİN.**

AL Tamponu ve AW1 Tamponu, çamaşır suyu ile birleştiğinde yüksek derecede reaktif bileşikler oluşturabilen guanidin hidroklorür içerir.

Bu tamponları içeren sıvılar dökülürse uygun laboratuvar deterjanı ve suyla temizleyin. Dökülen sıvı potansiyel olarak enfeksiyöz madde içeriyorsa etkilenen alanı önce laboratuvar deterjanı ve suyla, ardından %1 (h/h) sodyum hipoklorit ile temizleyin.

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kitinin bileşenleri için aşağıdaki zararlılık ve önlem ifadeleri geçerlidir.

#### AL Tamponu



İçindekiler: guanidin hidroklorür; maleik asit. Uyarı! Yutulursa veya solunursa zararlı olabilir. Cilt tahrişine neden olur. Ciddi göz tahrişine neden olur. Alerjik cilt reaksiyonlarına neden olabilir. Göz tahrişi devam ederse: Tıbbi öneri alın/ yardım isteyin. **GÖZ İLE TEMAS HALİNDE:** Birkaç dakika iyice suyla durulayın. Varsa ve kolaysa kontakt lensleri çıkarın. Yıkamaya devam edin. Kontamine giysileri çıkarın ve tekrar kullanmadan önce yıkayın. **CİLT İLE TEMAS HALİNDE:** Bol su ve sabun ile yıkayın. Cilt tahrişi oluşursa: Tıbbi öneri alın/ yardım isteyin. Koruyucu eldivenler/ koruyucu giysiler/ göz koruması/ yüz koruması kullanın.

#### ATL Tamponu



Uyarı! Hafif cilt tahrişine neden olur. Cilt tahrişi oluşursa: Tıbbi öneri alın/ yardım isteyin.

#### AW1 Tamponu



İçindekiler: guanidin hidroklorür. Uyarı! Yutulursa veya solunursa zararlıdır. Cilt tahrişine neden olur. Ciddi göz tahrişine neden olur. Kendiniz iyi hissetmezseniz bir ZEHİR MERKEZİ veya doktoru arayın. İçeriği/kabı onaylı bir atık atma tesisine atın. Kontamine giysileri çıkarın ve tekrar kullanmadan önce yıkayın. Koruyucu eldivenler/ koruyucu giysiler/ göz koruması/ yüz koruması kullanın.

#### Proteinaz K



İçindekiler: Proteinaz K. Tehlike! Hafif cilt tahrişine neden olur. Solunursa alerji veya astım belirtileri veya solunum zorluklarına neden olabilir. Tozu/buğuyu/gazı/dumanı/buharı/spreyi solumaktan kaçının. İçeriği/kabı onaylı bir atık atma tesisine atın. Solunum belirtileri yaşıyorsanız: Bir ZEHİR MERKEZİ veya doktoru arayın. **SOLUNMUŞSA:** Solunum zorsa kişiyi temiz havaya çıkarın ve solunum için rahat bir pozisyonda istirahathte tutun. Solunum koruması kullanın.

## Reaktif Saklama ve Kullanma

QIAamp MinElute kolonları, alındıktan sonra 2-8°C'de saklanmalıdır ve kit kutusunda belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

Tüm tamponlar oda sıcaklığında (15-25°C) saklanabilir ve kitin son kullanma tarihine kadar stabildir. Ancak, sulandırılarak hazırlanan AW1 ve AW2 Tamponu oda sıcaklığında (15-25°C) 1 yıla kadar veya kitin son kullanma tarihine kadar (hangisi daha kısaysa) saklanabilir.

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kiti, özel olarak formüle edilmiş saklama tamponu içinde tedarik edilen, kullanıma hazır bir Proteinaz K çözeltisi içerir. Proteinaz K, oda sıcaklığında (15-25°C) saklandığında kitin son kullanma tarihine kadar stabildir.

## Örnek Kullanımı ve Saklama

DNA fragmentasyonu kapsamını sınırlandırmak için standart formalin ile fiksasyon ve parafine gömme prosedürleri kullanılmalıdır; aşağıdaki işlemleri yaptığınızdan emin olun:

- Cerrahi işlemden sonra mümkün olduğunca hızlı biçimde ve laboratuvar protokolüne uygun olarak (%10 nötr tamponlu formalin genellikle kabul edilir) doku numunelerini formalin içinde fikse edin.
- 14-24 saatlik bir fiksasyon süresi kullanın. Uzatılmış fiksasyon (örneğin >24 saat) daha şiddetli DNA fragmentasyonuna ve dolayısıyla aşağı yönde miktar tayinlerinde yetersiz performansa yol açabileceğinden, fiksasyon sürelerini sınırlandırın.
- Gömme işleminden önce numuneleri iyice dehidrate edin (kalıntı formalin, Proteinaz K sindirimini inhibe edebilir).

DNA, ATE Tamponu içinde elüe edilir ve amplifikasyon reaksiyonlarında kullanım veya saklama için derhal hazır olur (koşullar, kullanıcı gerekliliklerine bağlıdır). Belirli QIAGEN aşağı yönde uygulamaları için önerilen saklama koşulları için ilgili kit el kitaplarına başvurun.

# Prosedür

## Başlamadan önce önemli noktalar

- QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kitinde verilen tüm reaktifler, yalnızca aynı QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kitindeki diğer reaktiflerle birlikte kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Optimum performansın korunması için kitin içindeki reaktiflerde değişim yapılmamalıdır.
- Kiti aldıktan sonra kit içeriğini hasar açısından kontrol edin. Paketler veya tampon şişeleri hasarlıysa QIAGEN Teknik Servisine veya yerel distribütörünüze başvurun. Sıvı dökülmesi durumunda bkz. "Uyarılar ve Önlemler", sayfa 10. Hasarlı kit bileşenlerinin kullanımı yetersiz kit performansına neden olabileceğinden, hasarlı kit bileşenlerini kullanmayın.
- Lot numaraları aynı olmadığı sürece, başka kitlerin kit bileşenlerini mevcut kullandığınız kit ile birlikte kullanmayın.
- Kit reaktiflerinin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının.
- Bu kit yalnızca in vitro diagnostik laboratuvar uygulamaları konusunda eğitimli personel tarafından kullanılmalıdır.
- Cilt yüzeyinden veya tozlu laboratuvar ekipmanından kontaminasyonu önlemek için reaktiflerin ve numunelerin kullanımı sırasında daima lateks veya vinil eldivenler kullanın. Eller ve toz partikülleri bakteri ve küfleri taşıyabilir ve yaygın kontaminasyon kaynaklarıdır. Eldivenleri sık sık değiştirin ve tüpleri kapalı tutun.
- Kullanılmayan tamponlar, akış testleri ve numune kalıntıları yerel prosedürlere göre atılmalıdır.
- Kendi plastik materyallerinizi kullanıyorsanız saflaştırma prosedüründe DNaz/RNaz içermeyen, bağlanma oranı düşük, tek kullanımlık, emniyet kapaklı 1,5-2 ml'lik konik tüpler tavsiye edilir.
- Tüm santrifügasyon adımlarını oda sıcaklığında (15-25°C) gerçekleştirin.
- Tüm tamponlar oda sıcaklığında (15-25°C) saklanmalı ve kullanmadan önce iyice karıştırılmalıdır.

- Adım 11'de kullanılmak üzere bir termomikseri veya ısıtılmalı orbital inkübatörü 56°C'ye getirin. Termomikser veya ısıtılmalı orbital inkübatör mevcut değilse bunun yerine ısıtma bloğu veya su banyosu kullanılabilir.
- AL Tamponu veya ATL Tamponu çökelti içeriyorsa hafifçe sallayarak 70°C'ye ısıtma yoluyla çözün.
- AW1 Tamponu ve AW2 Tamponunun aşağıdaki talimatlara göre hazırlandığından emin olun.
- QIAGEN'deki kalite kontrol prosedürleri, ayrı her kit lotu için işlevsel kit piyasaya sürüm testi kullanır. Bu nedenle, farklı kit lotlarından reaktifleri karıştırmayın ve farklı reaktif lotlarından ayrı reaktifleri bileştirmeyin.

## Tamponların hazırlanması

### ATL Tamponunun hazırlanması

- Prosedüre başlamadan önce ATL Tamponu içinde çökelti oluşup oluşmadığını kontrol edin. Gerekirse hafifçe sallayarak 70°C'ye ısıtma yoluyla çözün.

### AL Tamponunun hazırlanması

- Prosedüre başlamadan önce AL Tamponu içinde çökelti oluşup oluşmadığını kontrol edin. Gerekirse hafifçe sallayarak 70°C'ye ısıtma yoluyla çözün.

### AW1 Tamponunun hazırlanması

- 19 ml konsantre AW1 Tamponu içeren şişeye 25 ml etanol (%96-100) ekleyin. Etanolün eklendiğini belirtmek için şişe etiketi üzerindeki onay kutusunu işaretleyin. Sulandırılarak hazırlanan AW1 Tamponu oda sıcaklığında (15-25°C) 1 yıla kadar veya kitin son kullanma tarihine kadar (hangisi daha kısaysa) saklanabilir. Rekonstitüsyon tarihinin tampon etiketine yazılması tavsiye edilir.

**Not:** Prosedüre başlamadan önce, sulandırılarak hazırlanan AW1 Tamponunu çalkalayarak karıştırın.

## AW2 Tamponunun hazırlanması

- 13 ml konsantre AW2 Tamponu içeren şişeye 30 ml etanol (%96-100) ekleyin. Etanolün eklendiğini belirtmek için şişe etiketi üzerindeki onay kutusunu işaretleyin. Sulandırılarak hazırlanan AW2 Tamponu oda sıcaklığında (15-25°C) 1 yıla kadar veya kit üzerindeki son kullanma tarihine kadar (hangisi daha kısaysa) saklanabilir. Rekonstitüsyon tarihinin tampon etiketine yazılması tavsiye edilir.

**Not:** Prosedüre başlamadan önce, sulandırılarak hazırlanan AW2 Tamponunu çalkalayarak karıştırın.

## Başlangıç materyali

DNA saflaştırma için başlangıç materyali, FFPE dokudan alınan kesitlerdir (ideal olarak taze kesilmiş). Bir preparatta birden fazla kesit birleştirilebilir. Başlangıç materyalinizin yapısı hakkında bilginiz yoksa her preparat için en fazla üç kesit ile başlamanız tavsiye edilir.

Kullanıcı, laboratuvarında kullanılan prosedürler için kesit sayısını, kesit kalınlığını ve kesit yüzey alanını optimize etmelidir. Kit bir QIAGEN aşağı yönde uygulaması ile birlikte kullanılıyorsa talimatlar için ilgili el kitabına başvurun.

## Çapraz kontaminasyonu önlemeye yönelik kullanım prosedürü

Nükleik asit amplifikasyonu teknolojilerinin hassasiyeti nedeniyle, QIAamp MinElute kolonlarını kullanırken numuneler arasında çapraz kontaminasyondan kaçınmak için aşağıdaki önlemler gereklidir:

- Tüpleri doku ile aşırı doldurmayın.
- Dokuyu kazırken numuneler arasında bisturiyi değiştirin.
- Numuneyi veya çözeltiyi QIAamp MinElute kolonuna dikkatle uygulayın. Numunenin QIAamp MinElute kolonuna kolon kenarını ıslatmadan pipetlenmesi.

- Sıvı transferleri arasında daima pipet uçlarını değiştirin. Aerosol bariyerli pipet uçlarının kullanılması tavsiye edilir.
- Numune yıkama adımlarını gerçekleştirirken daima yeni yıkama tüpleri kullanın.
- Vorteksleme ve santrifügasyondan önce tüp kapaklarının tam olarak kapatıldığından emin olun.
- Santrifügasyondan önce QIAamp MinElute kolonunun tam olarak kapatıldığından emin olun.
- Tüm darbeli vorteksleme adımları ve 90°C'de inkübasyon adımlarından sonra, mikrosantrifüj tüplerini kısa bir süre santrifüjleyerek kapakların iç kısmındaki damlaları giderin.
- Her defasında yalnızca bir QIAamp MinElute kolonunu açın ve aerosol oluşturmaktan kaçının.
- Numuneler arasında daima bisturiyi değiştirin.
- Sıvı transferleri arasında daima pipet uçlarını değiştirin. Çapraz kontaminasyonu minimuma indirmek için aerosol bariyerli pipet uçlarının kullanılması ve çok adımlı pipetlerin kullanımından kaçınılması tavsiye edilir.
- Daima tek kullanımlık eldivenler kullanın ve numune materyaliyle kontamine olup olmadığını düzenli olarak kontrol edin. Kontamine olduğundan şüpheleniyorsanız eldivenleri atın.
- Her defasında yalnızca bir tüpü açın.

## Santrifügasyon

QIAamp MinElute kolonları birçok standart 1,5-2 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine uyar. Ek 2 ml'lik yıkama tüpleri ayrı olarak satılır (QIAGEN, kat. no. 19201). QIAamp MinElute kolonlarının santrifügasyonu, santrifüj gücünü azaltmak için yaklaşık 6000 x g'de gerçekleştirilir. Tam hızda santrifügasyon DNA verimini iyileştirmez. Ancak, QIAamp MinElute kolonlarının tam hızda santrifügasyonu iki prosedür adımı gereklidir: membranlardan sonraki kuru santrifügasyon adımı ve elüsyon adımı. Ayrıca tam hızda santrifügasyon, ksilenle işleme ve etanolla yıkama adımından sonra numuneyi aşağı indirmek için gereklidir.



Tüm santrifügasyon adımları oda sıcaklığında (15-25°C) gerçekleştirilmelidir. Düşük santrifügasyon sıcaklığı, optimumun altında ekstraksiyona neden olabilir.

## QIAamp MinElute kolonlarının mikrosantrifüjde işlenmesi

- QIAamp MinElute kolonlarını mikrosantrifüje yerleştirmeden önce mutlaka kapatın.
- QIAamp MinElute kolon membranına pipet ucuyla dokunmaktan kaçının.
- Akış fraksiyonları zararlı atıklar içerebilir ve uygun şekilde atılmalıdır.
- Birden fazla numunenin etkili şekilde paralel işlenmesi için, santrifügasyondan sonra QIAamp MinElute kolonlarının aktarılabileceği şekilde bir rafın yıkama tüpleriyle doldurulması tavsiye edilir. Akışı içeren kullanılmış yıkama tüpleri atılabilir ve QIAamp MinElute kolonlarını içeren yeni yıkama tüpleri doğrudan mikrosantrifüje yerleştirilebilir.
- Tüm süreç boyunca tam numune izlenebilirliğinin korunduğundan emin olun.

## Saflaştırılmış DNA elüsyonu

Küçük başlangıç hacimleri gerektiren aşağı yönde uygulamalarda (örneğin, bazı PCR miktar tayinlerinde), daha konsantre elüat miktar tayini hassasiyetini artırabilir; ancak potansiyel inhibitör konsantrasyonunda artışa da yol açabilir.

Elüsyon hacmindeki artış, elüattaki DNA konsantrasyonunu azaltır.

Elde edilen elüat hacmi, QIAamp MinElute kolonuna uygulanan ATE Tamponunun hacminden yaklaşık 5  $\mu$ l daha az olabilir. Örneğin, 20  $\mu$ l elüsyon hacmi  $\geq$ 15  $\mu$ l elüat sağlar. Elde edilen elüat hacmi numunenin yapısına bağlıdır.

Laboratuvarında kullanılan prosedürler için elüsyon hacmini optimize etmek kullanıcının sorumluluğundadır. Belirli QIAGEN aşağı yönde uygulamaları için gerekli önerilen elüsyon hacimleri için kit el kitaplarına başvurun.

---

Kolon santrifügasyondan önce örneğin 5 dakika oda sıcaklığında ATE Tamponu ile inkübe edilirse verim artırılabilir. Elüe edilen DNA 1,5 ml'lik elüsyon tüplerinde (birlikte verilir) toplanabilir. Elüe edilen DNA için saklama koşulları, kullanıcı tanımlı gerekliliklere bağlıdır. Belirli QIAGEN aşağı yönde uygulamaları için önerilen saklama koşulları için kit el kitaplarına başvurun.

# Protokol: FFPE Doku Kesitlerinden Genomik DNA İzolasyonu

## Prosedür

1. Bisturi kullanarak fazlalık parafini numune bloğundan uzaklaştırın.
2. Standart laboratuvar uygulamalarını izleyerek kesitler hazırlayın (bkz. "Başlangıç materyali", sayfa 15). Kullanıcı, laboratuvarında kullanılan prosedürler için kesit sayısını, kesit kalınlığını ve kesit yüzey alanını optimize etmelidir. Tüm prosedür boyunca numunelerin izlenebilirliğinin korunduğundan emin olun.
3. Hemen steril bisturiyi kullanarak kesitlerden doku kazıyarak Lizis Tüpüne (birlikte verilir) yerleştirin. Kullanılabilir tüm dokuların tüpe yerleştirildiğinden emin olun. Numuneye 1 ml ksilen ekleyin, kapağı kapatın ve parafin çözüne kadar (örn. 10 sn) kuvvetlice vorteksleyin. Ksilenin dökülmesini, numuneler arasında çapraz kontaminasyonu ve ksilen ile olası teması önlemek için tüpün tam olarak kapatıldığından emin olun.  
**Not:** Ksileni çeker ocaklarda veya diğer uygun muhafaza araçlarında kullanın.
4. Oda sıcaklığında yaklaşık 2 dakika tam hızda santrifüjleyerek doku pelletini toplayın. Doku pelleti oluşmadıysa bu adımı tekrarlayın.  
**Not:** Düşük santrifügasyon sıcaklığı, optimumun altında ekstraksiyona neden olabilir.
5. Üst fazı pipetleyerek alın ve atın. Pelleti koruyun.  
Üst faz, zararlı bir atık olan ksilen içerir ve yerel düzenlemelere göre uygun şekilde atılmalıdır.
6. Doku pelletine 1 ml etanol (%96-100) ekleyin ve vorteksleyerek iyice karıştırın.  
Etanol, numunedeki kalıntı ksileni ekstre eder ve uygun şekilde atılmalıdır.

7. Oda sıcaklığında yaklaşık 2 dakika tam hızda santrifüjleyin.

Üst fazı pipetleme yoluyla çıkarın. Pelletin hiçbir kısmını çıkarmayın.

İnce bir pipet ucu kullanarak kalıntı etanolü dikkatle çıkarın. Tüpü açın ve tüm kalıntı etanol buharlaşana kadar 15-40°C'de inkübe edin. Ekstraksiyonun başarısı için kalıntı etanolün çıkarılması çok önemlidir.

**Not:** Daha düşük inkübasyon sıcaklığı buharlaşma süresini yavaşlatır; daha yüksek sıcaklık ise pelleti aşırı kurutarak süspansiyonu zorlaştırır.

8. Pelleti 180 µl ATL Tamponunda yeniden süspansiyon haline getirin. 20 µl Proteinaz K ekleyin ve vorteksleyerek karıştırın.

**Not:** Maksimum ürün geri kazanımı için pellet ATL tamponunda iyice yeniden süspansiyon haline getirilmiş olmalıdır.

9. 56°C ± 3°C'de yaklaşık 1 saat (numune tamamen çözülene kadar) inkübe edin.

10. 90°C ± 5°C'de 1 saat ± 5 dakika inkübe edin.

90°C'de ATL Tamponunda inkübasyon, nükleik asitlerin formaldehit modifikasyonunu kısmen tersine çevirir. Daha kısa inkübasyon süreleri veya daha düşük inkübasyon sıcaklıkları DNA kalitesini ve niceliğini etkileyebilir. Tek bir ısıtma bloğu kullanılıyorsa, 56°C'de inkübasyondan sonra ısıtma bloğu 90°C'ye ulaşana kadar numuneyi oda sıcaklığında bırakın.

11. Tüpü kısa bir süre santrifüjleyerek kapağın iç kısmındaki damlaları giderin.

12. Numuneye 200 µl AL Tampon ekleyin ve vorteksleyerek iyice karıştırın. Ardından 200 µl etanol (%96-100) ekleyin ve tekrar vorteksleyerek iyice karıştırın.

Homojen bir çözelti elde etmek için numune, AL Tamponu ve etanolün vorteksleme veya pipetleme yoluyla derhal ve iyice karıştırılması çok önemlidir. Birden fazla numune işlenirken zaman kazanmak için AL Tamponu ve etanol önceden karıştırılarak tek adımda birlikte eklenebilir. AL Tamponu ve etanol eklendiğinde beyaz bir çökelti oluşabilir. Bu çökelti QIAamp prosedürünü etkilemez. Daima taze karışım kullanın ve kullandıktan sonra derhal atın.

13. Tüpü kısa bir süre santrifüjleyerek kapağın iç kısmındaki damlaları giderin.

14. Kenarını ıslatmadan QIAamp MinElute kolonuna lizatın tamamını dikkatle aktarın (2 ml'lik bir yıkama tüpünde), kapağını kapatın ve yaklaşık 6000 x g'de  $\geq 1$  dakika santrifüjleyin. QIAamp MinElute kolonunu 2 ml'lik temiz bir yıkama tüpüne (birlikte verilir) yerleştirin ve akışı içeren yıkama tüpünü atın.

Santrifüjasyondan sonra lizat membrandan tamamen geçmemişse QIAamp MinElute kolonu boşalana kadar daha yüksek hızda tekrar santrifüjleyin.

15. QIAamp MinElute kolonunu dikkatlice açın ve kenarı ıslatmadan 500  $\mu$ l sulandırılarak hazırlanmış AW1 Tamponu ekleyin. Kapağı kapatın ve yaklaşık 6000 x g'de  $\geq 1$  dakika santrifüjleyin. QIAamp MinElute kolonunu 2 ml'lik temiz bir yıkama tüpüne yerleştirin ve akışı içeren yıkama tüpünü atın.

16. QIAamp MinElute kolonunu dikkatlice açın ve kenarı ıslatmadan 500  $\mu$ l sulandırılarak hazırlanmış AW2 Tamponu ekleyin. Kapağı kapatın ve yaklaşık 6000 x g'de  $\geq 1$  dakika santrifüjleyin. QIAamp MinElute kolonunu 2 ml'lik temiz bir yıkama tüpüne yerleştirin ve akışı içeren yıkama tüpünü atın.

QIAamp MinElute kolonu ile akış arasında temas önlenmelidir. Santrifüj rotorunun dengeli olduğundan emin olun. Bazı santrifüj rotorları yavaşlama sırasında titreyebilir ve bu durum, etanol içeren akışın QIAamp MinElute kolonuna temas etmesine neden olabilir. Akışın QIAamp MinElute kolonuna temas etmemesi için, QIAamp MinElute kolonunu ve yıkama tüpünü rotordan çıkarırken dikkatli olun.

17. Membranı kurutmak için tam hızda (yaklaşık 20,000 x g) yaklaşık 3 dakika santrifüjleyin. Elüata etanol taşınması, bazı aşağı yönde uygulamaları engelleyebilir.

18. QIAamp MinElute kolonunu 1,5 ml'lik temiz bir elüsyon tüpüne (birlikte verilir) yerleştirin ve akışı içeren yıkama tüpünü atın. QIAamp MinElute kolon kapağını dikkatlice açın ve membranın ortasına 20-200 µl ATE Tamponu uygulayın.

**ÖNEMLİ:** Küçük elüsyon hacimleri (<50 µl) kullanılıyorsa bağlı DNA'nın tam elüsyonunu sağlamak için membranın ortasına ATE Tamponu dağıtın. QIAamp MinElute kolonları, elüsyon hacmi seçiminde esneklik sağlar. Aşağı yönde uygulamanın gereklilikleri doğrultusunda bir hacim seçin. Elüat hacmi, kolona uygulanan elüsyon çözeltisinin hacminden yaklaşık 5 µl daha az olur.

19. Kapağı kapatın ve oda sıcaklığında (15-25°C) en az 1 dakika inkübe edin. Tam hızda (yaklaşık 20,000 x g) ≥ 1 dakika santrifüjleyin.

ATE Tamponu yüklenen QIAamp MinElute kolonunun santrifügasyondan önce yaklaşık 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmesi DNA verimini artırabilir.

# Kalite Kontrol

QIAGEN'in ISO sertifikalı Kalite Yönetim Sistemi uyarınca her QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kiti tutarlı ürün kalitesi sağlamak üzere önceden belirlenmiş spesifikasyonlara göre test edilir.

## Sınırlamalar

Kit performansı, genomik DNA izolasyonu için formalinle fikse edilmiş, parafine gömülmüş dokular (FFPE dokuları) kullanılarak belirlenmiştir.

Laboratuvarlarında el kitabında açıklanan QIAGEN performans çalışmalarının kapsamında olmadan kullanılan herhangi bir işlem için sistem performansını doğrulamak kullanıcının sorumluluğundadır.

Diagnostik sonuçlar üzerine negatif bir etki riskini minimuma indirmek üzere aşağı yönde uygulamalar için yeterli kontroller kullanılmalıdır. Ek doğrulama için International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) (Teknik Gereklilikler Uluslararası Uyumlaştırma Konferansı) ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology (Analitik İşlemlerin Doğrulanması: Metin ve Metodoloji) kılavuz ilkeleri önerilir.

Oluşan herhangi bir diagnostik sonuç diğer klinik veya laboratuvar bulgularıyla birlikte yorumlanmalıdır.

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kiti kullanılırken, numunede varsa RNA da DNA ile birlikte saflaştırılabilir.

# Performans Özellikleri

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kitinin performans özellikleri için bkz. [www.qiagen.com/p/QIAamp-DSP-DNA-FFPE-Tissue-CE](http://www.qiagen.com/p/QIAamp-DSP-DNA-FFPE-Tissue-CE).

## Semboller

Aşağıdaki semboller ambalaj ve etiket üzerinde görülebilir:

Sembol	Sembol tanımı
	<N> reaksiyon için yeterli reaktif içerir
	Son kullanma tarihi
	İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz
	Gelince
	Katalog numarası
	Lot numarası
	Materyal numarası
	Bileşenler
	İçindekiler
	Numara



## Sembol

## Sembol tanımı



Şişeye etanol ekledikten sonra geçerli tarihi yazın

EtOH

Etanol

ADD

Ekleme

GuanHCl

Guanidin hidroklorür

MALEIC ACID

Maleik asit

GTIN

Küresel Ticaret Parça Numarası



Sıcaklık sınırlaması



Üretici



Kullanım talimatlarına bakın



Dikkat

## İletişim Bilgileri

Teknik destek ve daha fazla bilgi için lütfen [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) adresindeki Teknik Destek Merkezi'ne bakın, 00800-22-44-6000 numarasını arayın ya da QIAGEN Teknik Servis Bölümlerinden birine veya yerel distribütörlere başvurun (arka kapağa bakın veya [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresini ziyaret edin).

## Sipariş Bilgileri

Ürün	İçindekiler	Kat. no.
<b>QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kiti - parafine gömülmüş dokulardan genomik DNA saflaştırması için</b>		
QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (50)	50 DNA işlemi için: 50 QIAamp MinElute® Kolonları, Proteinaz K, Tamponlar, Yıkama Tüpleri (2 ml), Elüsyon Tüpleri (1,5 ml), Lizis Tüpleri (2 ml)	60404

Güncel lisans bilgileri ve ürüne özgü yasal uyarılar için ilgili QIAGEN kiti el kitabına veya kullanım kılavuzuna bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servisi veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Ticari markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, MinElute® (QIAGEN Group); Eppendorf® (Eppendorf AG).

**QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kiti El Kitabı için Sınırlı Lisans Sözleşmesi**

Bu ürünün kullanımı, herhangi bir alıcının veya ürün kullanıcısının aşağıdaki koşulları kabul ettiği anlamına gelir:

1. Ürün yalnızca ürünle ve bu el kitabında verilen protokollere uygun olarak kullanılabilir ve yalnızca panelin içinde bulunan bileşenlerle kullanım içindir. QIAGEN, bu panel ile birlikte verilen bileşenlerin ürünle birlikte verilen protokollerde, el kitabında ve [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinden ulaşılabilen ek protokollerde belirtilenler dışında bu panelin içinde yer almayan herhangi bir bileşenle kullanımı veya birleştirilmesi için fikri mülkiyeti çerçevesinde lisans vermez. Bu ek protokollerden bazıları QIAGEN kullanıcıları tarafından QIAGEN kullanıcıları için sağlanmıştır. Bu protokoller QIAGEN tarafından kapsamlı şekilde test edilmemiş veya optimize edilmemiştir. QIAGEN bu protokollerin üçüncü tarafların haklarını ihlal etmediğini garanti etmez.
2. Açıkça belirtilen lisanslar dışında, QIAGEN bu panel ve/veya kullanımlarının üçüncü tarafların haklarını ihlal etmeyeceğini garanti etmez.
3. Bu panel ve bileşenleri bir kez kullanım için lisanslıdır ve tekrar kullanılamaz, yenilenemez ve tekrar satılamaz.
4. QIAGEN açıkça ifade edilenlerin dışında açık veya zımni diğer tüm lisansları özellikle reddeder.
5. Panelin alıcısı veya kullanıcısı, yukarıda yasaklanan eylemlere neden olabilecek veya bunları kolaylaştırabilecek herhangi bir adım atmamayı veya başkasının atmasına izin vermemeyi kabul eder. QIAGEN bu Sınırlı Lisans Sözleşmesinin yasaklarını herhangi bir mahkemede yürürlüğe koyabilir ve kit ve/veya bileşenleriyle ilişkili herhangi bir fikri mülkiyet hakkı veya bu Sınırlı Lisans Sözleşmesini yürürlüğe koymak için tüm araştırma ve mahkeme masraflarını avukat masrafları dahil olmak üzere geri alacaktır.

Güncellenmiş lisans koşulları için bkz. [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Şubat 17 HB-0414-004 © 2017 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

---

Ordering [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Technical Support [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Website [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)