




# Suoritusarvot

QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue Kit, Versio 1 **REF** 60404

## Versiotiedot

Tässä asiakirjassa on DSP DNA FFPE Tissue -pakkauksen suoritusarvot, versio 1, R3.

  	Tarkista ennen kokeen suorittamista uusien elektronisten etikettiversioiden saatavuus osoitteesta <a href="http://www.qiagen.com/HB-0414">www.qiagen.com/HB-0414</a> Ajankohtainen versio käy ilmi julkaisupäivämäärästä (muoto: kuukausi/vuosi).
---	--

## Myöhemmät analyysit

Uutettu genominen DNA on valmis käytettäväksi erilaisissa myöhemmissä määrityksissä, myös useissa eri diagnostisissa in vitro -määrityksissä. Katso soveltuvan QIAGEN-pakkauksen käsikirjasta lisätietoja järjestelmän tarkoista suoritusarvoista.

## Puhdistetun DNA:n tuotos

Formaliini-fiksoiduissa, parafiinivaletuissa (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE) näytteissä voi olla erittäin paljon kudoksen heterogeenisyyttä. Lisäksi kudosten pinnat vaihtelevat suuresti FFPE-näytteissä, jolloin myös näytteestä uutetun DNA:n laatu vaihtelee. Siksi käyttäjän on itse määritettävä sopivin palojen määrä, paksuus ja palojen pinnan pinta-ala näytteen luonteen mukaan ja kaikkiin laboratorioissa käytettäviin menetelmiin.

Jos pakkauksia käytetään myöhemmin yhdessä QIAGEN-sovellusten kanssa, katso ohjeita soveltuvan sovelluksen käyttöohjeesta.

Riittämätön kudoksen kuivaus FFPE-kudoksen valmistelun aikana, liian parafiinin joutuminen näytteen mukana eristysputkeen, suositeltua epäpuhtaamman etanolin (muun kuin molekyylibiologiaan sopivan tasoisen etanolin) käyttö tai ksyleenin tai etanolin jääminen näytteeseen voi johtaa puutteelliseen uuttumiseen tai DNA:n pieneen määrään.

## Toistettavuus

Toistettavuus on arvioitu käyttämällä kuutta FFPE-solulinjaa, jotka luotiin formaliini-fiksoiduista ja parafiinivaletuista ihmissoluista. Näytteet on testattu QuantiTect® SYBR® Green mastermix- ja  $\beta$ -aktiinin geenispesifisillä valmisteluaineilla ja reaaliaikaisen Rotor-Gene® Q -PCR-syklilaitteen avulla. PCR-reaktiot tehtiin 174 bp:n kappaleelle ja 218 bp:n kappaleelle ihmisen  $\beta$ -aktiinigeeniä.

Tilastolliseen analyysiin käytettiin 72 tietopistettä molemmista kappaleista. Tilastolliseen analyysiin kuului keskihajonnan (standard deviation, SD) sekä ylemmän ja alemman 95 %:n luottamusrajan laskenta. Vaihtelu arvioitiin käyttämällä varianssikomponenttianalyysia 218 bp:n kappaleen keskihajontana (SD: 0,342  $C_T$ ; alempi 95 %:n luottamusraja: 0,291; ylempi 95 %:n luottamusraja: 0,413). Tätä voidaan käyttää arviona eristysprosessin toistettavuudelle. 174 bp:n kappaleelle arvioitu variaatio oli 0,258  $C_T$ ; alempi 95 %:n luottamusraja: 0,220; ylempi 95 %:n luottamusraja: 0,312.

## Uusittavuus

Uusittavuus arvioitiin kolmessa laboratoriossa käyttämällä kolmea kliinistä FFPE-näytettä, jotka sisälsivät ei-pienisoluisen keuhkosyövän (non-small cell lung cancer, NSCLC) kudosta: yhdessä oli 6223-deleetio-mutaatio, yhdessä oli L858R-mutaatio ja yksi oli villin tyyppin (wild-type, WT) näyte. Kliiniset FFPE-näytteet valittiin tunnetun mutaatiotilan perusteella Sangerin sekvensoinnin mukaan.

Jokaisesta mutatoituneesta kliinisestä FFPE-näytteestä satunnaistettiin 48 peräkkäistä FFPE-osaa pareiksi, joita käytettiin uusittamisessa ja jotka jaettiin kolmeen erään. Erät lähetettiin eri laboratorioihin.

Uuttaminen tehtiin kaksoiskappaleina kaikissa tutkimuslaitoksissa. Jokaisessa laitoksessa käytettiin erillistä QIAamp FFPE DNA DSP -pakkauserää toimenpiteen tekoon. Näytteiden arviointi ja mutaation arviointi tehtiin käyttämällä *therascreen* EGFR RGQ PCR -pakkausta kaikissa kolmessa tutkimuslaitoksessa. Näytteitä testattiin kolmena ei-peräkkäisenä päivänä kuuden päivän aikana. Jokainen näyte testattiin kuusi kertaa jokaisessa tutkimuslaitoksessa, jolloin saatiin 18 tietopistettä näytettä kohti.

Kaikissa näytteissä ja kaikissa kolmessa tutkimuslaitoksessa todettiin 100-prosenttisesti oikea mutaatio.

## Lineaarisuus

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue -pakkausta voidaan käyttää DNA:n uuttamiseen erilaisista kudostyypeistä. Lineaarinen valikoima on muodostettava asiakkaan vaatimusten mukaan ja validoitava laitoskohtaisesti. Erilaisia lineaarisia valikoimia odotetaan erilaisista kudostyypeistä, järjestelmään asetetun kudospäärän mukaisesti, sekä erilaisista kudosomeinaisuuksista.

## Häiritsevät aineet

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue -pakkausta voidaan käyttää DNA:n uuttamiseen erilaisista kudostyypeistä. Mahdolliset häiritsevät aineet voivat olla peräisin eri lähteistä, esim. kudostyyppille tai elimelle tyypilliset luonnolliset metaboliitit, patologisten tilojen aiheuttamat metaboliitit, potilaan hoidon aikana käytetyt aineet tai potilaan ravinnon mukana sulattamat aineet. Mahdollisten häiritsevien aineiden moninaisuuden ja tiettyjen myöhempien sovellusten erilaisten herkkyysien takia suosittelemme, että käyttäjä arvioi häiritsevien materiaalien vaikutuksen omaan järjestelmäänsä ja validoi myöhemmän diagnostisen sovelluksen omat häirinnän varalta asetetut tarkkailumenetelmät.

Katso tiettyjen myöhempien QIAGEN-sovellusten käsikirjoista lisätietoja häiritsevistä aineista.

## Ristikontaminaatio

Ristikontaminaation tason arviointiin käytettiin kahta FFPE-solulinjan NSCLC-näytettä: villi tyypin näytettä ja FFPE-solulinjan näytettä, jossa oli exon 21 L858R -mutaatio. Tutkimuksessa pyrittiin matkimaan tilannetta, jossa korkeatasoista mutaatiota sisältävät näytteen voivat ristikontaminoida muut näytteet uuttamistoimenpiteen aikana. DNA:n puhdistus tehtiin haastamaan toimenpide puhdistamalla villin tyypin näytteiden viereen asetettujen L858R-mutatoituneiden näytteiden DNA:ta käyttäen yhtä reagenssierää. Ristikontaminaatio arvioitiin *therascreen*<sup>®</sup> EGFR RGQ PCR -pakkauksen avulla. Tuloksissa ei näkynyt ristikontaminaatiota koko järjestelmässä.

## QIAamp DSP DNA FFPE -pakkauksen DNA:n uuttamissuoritus Pyrosequencing<sup>®</sup>-sekvenssoinnissa

FFPE-kudoksesta eristetty DNA liuotettiin DNA-pitoisuuteen 2 ng/μl *therascreen* EGFR Pyro -määrityksellä tehtävää analyysia varten. Kaikilla suorituskyvyn ominaisuuksien testauskerroilla signaali oli yli 30 RLU (relatiiviset valokyksiköt) kaikille kodoneille ja kaikkien näytteiden lääketieteellinen tulos oli oikean mutaatioanalyysissa.

## Uuttamisvakaus

Uuttamisvakaus on yhteispuhdistettujen epäpuhtauksien (kudostyyppiin liittyvät) sisällön ja tyyppin, uuttamistilavuuden ja säilytysolosuhteiden mukainen. Suosittelemme, että käyttäjä määrittää uuttamisvakauden tarpeidensa mukaan.

Jos pakkauksia käytetään myöhemmin yhdessä QIAGEN-sovellusten kanssa, katso ohjeita soveltuvan pakkauksen käyttöohjeesta.

Voimassa olevat lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet ovat saatavilla tuotekohtaisista QIAGEN®-pakkausten käyttöoppaista tai käsikirjoista. QIAGEN-sarjojen käsikirjat ja käyttöoppaat löytyvät osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), tai niitä voi tiedustella QIAGENin teknisestä huollosta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

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

© 2017 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään. 02/2017 HB-0414-D01

---

Tilaukset: [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Tekninen tuki: [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Verkkosivusto: [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)