

# QIAamp<sup>®</sup> DSP DNA FFPE Tissue Kit 사용 설명서(안내서)



버전 2

**IVD**

체외 진단용

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit용



카탈로그 번호

**REF**

60404



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 독일

R2 **MAT**

1130780KO

# 목차

용도.....	4
대상 사용자.....	4
설명 및 원리.....	5
요약 및 설명.....	5
절차의 원리.....	5
제공물.....	7
키트 내용물.....	7
키트 구성품.....	8
필요하지만 제공되지 않는 품목.....	9
추가 시약.....	9
소모품.....	9
장비.....	9
경고 및 예방 조치.....	10
안전성 정보.....	10
긴급 정보.....	11
예방 조치.....	11
폐기.....	12
시약 보관 및 취급.....	13
사용 중 안정성.....	13
시료 보관 및 취급.....	14
절차.....	15
프로토콜: FFPE 조직 절편에서 유전체 DNA 분리.....	21

정도 관리 ..... 25

제한 사항 ..... 26

성능 특징 ..... 27

문제 해결 가이드 ..... 28

기호 ..... 30

부록: 취급 ..... 33

주문 정보 ..... 34

문서 개정 이력 ..... 35

## 용도

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit는 실리카 막 기술(QIAamp 기술)을 사용하여 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) 생물학적 시료에서 유전체 DNA를 분리 및 정제하는 시스템입니다.

수동 검체 준비에 사용되며 정량적 또는 정성적 검사 결과를 제공하지 않습니다.

## 대상 사용자

이 제품은 체외 진단(In Vitro Diagnostic, IVD) 절차를 위한 분자생물학 기법에 대한 교육을 받은 기술자 및 의사 등 전문 사용자가 사용해야 합니다.

# 설명 및 원리

## 요약 및 설명

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit는 FFPE 조직 절편으로부터 DNA를 정제하기 위해 사용됩니다. 이 키트는 소량의 검체 용량 또는 크기로부터 유전체 및 미토콘드리아 DNA를 정제하기 위해 인정된 QIAamp DNA 마이크로 기술을 사용합니다. 이 키트는 실리카 기반 막의 선택적 결합 특성과 유연한 용출량을 결합한 것입니다.

용해 상태를 통해 밤새 배양할 필요 없이 유전체 DNA를 FFPE 조직 절편으로부터 효율적으로 정제할 수 있습니다. 단백분해효소 K 분해 후 고온 배양은 방출된 DNA의 포르말린 가교를 부분적으로 제거하고 잠재적으로 다운스트림 분석에서의 수율 및 DNA 성능을 향상시킬 수 있습니다. FFPE 검체에서 분리된 DNA는 신선하거나 냉동된 검체의 DNA에 비해 분자량이 적은 경우가 일반적이라는 점에 유의해야 합니다. 단편화 정도는 검체의 유형과 수명 및 고정에 사용된 조건에 따라 달라집니다.

간단한 QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit 절차는 검체 용해 후 여러 검체를 동시에 처리하기에 적합합니다.

사용자 실험실의 절차가 안내서에 설명된 QIAGEN® 성능 시험의 범위 내에 속하지 않는 경우에 시스템 성능을 검증하는 작업은 사용자의 책임입니다.

## 절차의 원리

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit 절차는 6단계로 구성되어 있습니다(그림 1).

- 파라핀 제거: 파라핀은 크실렌에 용해되어 제거됩니다.
- 용해: 검체가 단백분해효소 K의 변성 조건하에 56°C에서 용해됩니다.
- 가열: 90°C 배양으로 포르말린 가교 결합을 역전합니다.

- 결합: DNA는 막에 결합되고 오염 물질은 통과합니다.
- 세척: 잔여 오염 물질이 씻겨나갑니다.
- 용출: 막에서 순수 농축 DNA가 용출됩니다.

**QIAamp DSP DNA FFPE Tissue 절차**

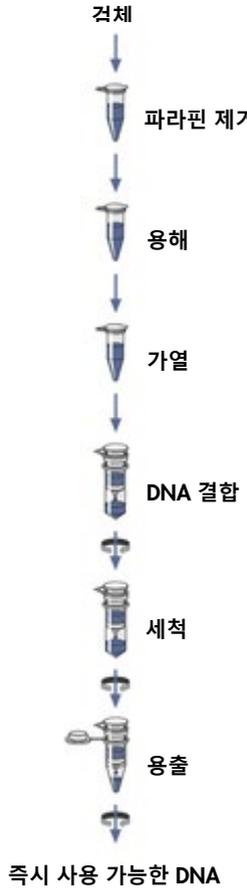
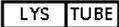


그림 1. QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit 절차.

# 제공물

## 키트 내용물

<b>QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit</b>	<b>(50)</b>
카탈로그 번호	<b>60404</b>
준비 수	<b>50</b>

	의미	기호	수량
QIAamp MinElute®	QIAamp MinElute Columns with Wash Tubes (세척 튜브가 있는 QIAamp MinElute 컬럼)		50
WT	Wash Tubes(세척 튜브)(2 ml)		3 x 50
ET	Elution Tubes(용출 튜브)(1.5 ml)		50
LT	Lysis Tubes(용해 튜브)(2 ml)		50
ATL	Tissue Lysis Buffer(조직 용해 완충액)		10 ml
AL	Lysis Buffer*(용해 완충액)		12 ml
AW1	Wash Buffer 1*(세척 완충액 1)(농축액)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2*(세척 완충액 2)(농축액)		13 ml
ATE	Elution Buffer†(용출 완충액)		12 ml
PK	Proteinase K(단백분해효소 K)		1.25 ml
-	사용 지침(안내서)		1

\* 구아니딘염을 포함합니다. 표백제를 포함하는 소독제와 같이 사용할 수 없습니다. 경고 및 예방 조치는 10 페이지를 참조하십시오.

† 방부제 역할을 하는 아지드화 나트륨을 함유하고 있습니다.

## 키트 구성품

아래는 키트의 주요 구성품에 대한 설명입니다.

표 1. 제공된 시약의 활성 성분

시약		활성 성분	농도(w/w)[%]
기호	이름		
ATL	Buffer ATL	나트륨 도데실 황산염	$\geq 1 \sim < 10$
AL	Buffer AL	염산 구아니딘	$> 30 \sim < 50$
		말레산	$\geq 0.1 \sim < 1$
AW1	Buffer AW1	염산 구아니딘	$\geq 50 \sim < 70$
		에탄올	$\geq 10 \sim < 90$
AW2	Buffer AW2	에탄올	$\geq 10 \sim < 90$
ATE	Buffer ATE	없음	-
PK	Proteinase K (단백분해효소 K)	단백분해효소 K	$\geq 1 \sim < 10$

DNA 분리 후 생성된 진단 결과에 부정적인 영향을 미칠 수 있는 위험을 최소화하려면 후속 애플리케이션에 적절한 대조물질을 사용해야 합니다.

# 필요하지만 제공되지 않는 품목

화학물질을 사용할 때는 항상 적합한 실험용 가운, 일회용 장갑 및 보안경을 착용하십시오. 자세한 정보는 제품 공급업체에서 구할 수 있는 적절한 안전 보건 자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하십시오.

## 추가 시약

- 크실렌
- 에탄올(96 ~ 100%)\*

## 소모품

- 키트 내에 제공된 튜브를 사용하지 않기로 한 경우, 1.5 또는 2 ml 마이크로 원심분리기 튜브(용해 단계용) 및 1.5 ml 마이크로 원심분리기 튜브(용출 단계용)를 권장합니다(예: Sarstedt®, 카탈로그 번호 72.690에서 사용 가능). 안전 뚜껑이 있는 DNase/RNase 무함유, 코니칼 튜브를 권장합니다. 사용자 실험실의 절차가 QIAGEN 성능 시험의 범위 내에 속하지 않는 경우에 시스템 성능을 검증하는 작업은 사용자의 책임입니다.
- 피펫 및 피펫 팁(교차 오염을 방지하려면 에어로졸 장벽이 있는 피펫 팁의 사용을 강력히 권장함)

## 장비†

- 56°C, 70°C, 90°C에서 배양 가능한, 열교반기‡, 가열 회전 배양기, 가열 블록 또는 수조
- 2 ml 튜브용 로터 포함 마이크로 원심분리기\*
- 교반기

\* 메탄올 또는 메틸에틸케톤과 같은 기타 물질을 함유한 변성 알코올은 사용하지 마십시오.

† 사용하기 전에 제조업체의 권장사항에 따라 기기를 점검 및 캘리브레이션하십시오.

‡ 검체를 QIAamp DSP DNA FFPE 절차로 적절히 처리할 수 있도록 기기를 제조업체의 권장사항에 따라 보정할 것을 강력히 권장합니다.

# 경고 및 예방 조치

QIAGEN의 위험 관리를 기반으로 의도한 모든 위험 관리 조치가 제품 설계에 구현되었습니다. 전반적인 잔류 위험이 허용 가능한 것으로 판단되고 장치를 사용하기에 안전한 것으로 판단됩니다. 이 안내서에는 장치의 안전과 성능을 보장하기 위한 지침, 경고, 예방 조치가 포함되어 있습니다. 해당 사항을 엄격하게 준수해야 합니다.

기기와 관련하여 발생한 중대한 사건을 제조업체 및/또는 사용자 및/또는 환자가 거주하는 국가의 규제 당국에 보고하는 데 있어 현지 규정을 따라야 할 수 있다는 점에 유의하십시오.

## 안전성 정보

화학물질을 사용할 때는 항상 적합한 실험용 가운, 일회용 장갑 및 보안경을 착용하십시오. 자세한 정보는 적절한 안전보건자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하십시오. 해당 정보는 편리하고 용량이 작은 PDF 형식으로 [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)에서 온라인으로 제공되며, 해당 페이지에서 각 QIAGEN 키트 및 키트 구성품에 대한 SDS를 검색하여 보고 인쇄할 수 있습니다.

### 주의

검체 준비 과정의 폐기물에 표백제나 산성용액을 직접 가하지 마십시오.



- Buffer AL 및 Buffer AW1은 표백제와 결합할 때 반응성이 높은 화합물을 형성할 수 있는 염산 구아니딘을 함유하고 있습니다.
- 이들 완충액을 포함하는 액체를 흘린 경우 적절한 실험실 세제 및 물로 닦아내십시오. 흘린 액체에 감염체가 포함될 가능성이 있으면 해당 부분을 우선 실험실 세제 및 물로 세척한 다음 1%(v/v)의 차아염소산 나트륨으로 세척하십시오.
- 표본 및 검체는 감염될 가능성이 있습니다. 검체 및 분석 폐기물은 현지 안전 절차에 따라 폐기하십시오.

## 긴급 정보

CHEMTREC

미국 및 캐나다 1-800-424-9300

미국 및 캐나다 이외 +1 703-527-3887

## 예방 조치

### Buffer AL



내용물: 염산 구아니딘 및 말레산. 경고! 삼키거나 흡입하면 해로울 수 있습니다. 피부 자극을 일으킵니다. 눈에 심한 자극을 일으킵니다. 알레르기 피부 반응을 일으킬 수 있습니다. 눈 자극이 지속될 경우: 의사의 진찰/치료를 받으십시오. 눈에 들어간 경우: 물로 몇 분 동안 주의하여 씻어냅니다. 콘택트 렌즈를 끼고 있으며 쉽게 뺄 수 있는 경우 빼냅니다. 계속 씻어냅니다. 오염된 의복을 벗고 다시 사용하기 전에 세탁하십시오. 피부에 묻은 경우: 다량의 물과 비누로 씻습니다. 피부 자극이 발생하는 경우: 의사의 진찰/치료를 받으십시오. 보호용 장갑/보호복/보안경/얼굴 보호대를 착용하십시오.

### Buffer ATL



경고! 약간의 피부 자극을 일으킵니다. 피부 자극이 발생하는 경우: 의사의 진찰/치료를 받으십시오.

### Buffer AW1



내용물: 염산 구아니딘. 경고! 삼키거나 흡입하면 해롭습니다. 피부 자극을 일으킵니다. 눈에 심한 자극을 일으킵니다. 몸에 이상을 느낄 시 독성물질 센터 또는 의사에게 연락하십시오. 내용물/용기를 승인된 폐기물 처리 시설에 폐기하십시오. 오염된 의복을 벗고 다시 사용하기 전에 세탁하십시오. 보호용 장갑/보호복/보안경/얼굴 보호대를 착용하십시오.

### Proteinase K



내용물: Proteinase K. 위험! 약간의 피부 자극을 일으킵니다. 흡입 시 알레르기나 천식 증상 또는 호흡 곤란을 일으킬 수 있습니다. 먼지/연기/가스/연무/증기/비말을 흡입하지 마십시오. 내용물/용기를 승인된 폐기물 처리 시설에 폐기하십시오. 호흡기 증상을 느끼는 경우: POISON CENTER 또는 의사에게 연락합니다. 흡입한 경우: 흡입한 자가 호흡에 어려움을 느끼는 경우 야외나 환기가 잘 되는 곳으로 이동시켜 편안한 자세로 휴식을 취하도록 합니다. 호흡기 보호 장치를 착용하십시오.

## 폐기

폐기물에는 검체 및 시약이 포함되어 있습니다. 이러한 폐기물은 독성 또는 감염성 물질을 함유할 수 있으며 적절하게 폐기해야 합니다. 적절한 폐기 절차는 현지 안전 규정을 참조하십시오.

자세한 정보는 적절한 안전보건자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하십시오. [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)에서 해당 SDS를 온라인 PDF 형식으로 사용할 수 있으며 각 QIAGEN 키트 및 키트 구성품에 대한 안전보건자료를 찾아서 보고 인쇄할 수 있습니다.

## 시약 보관 및 취급

QIAamp MinElute 컬럼은 도착 즉시 2~8°C에서 보관해야 하며 키트 상자에 표시된 유효 기한까지 사용할 수 있습니다.

모든 완충액은 실온(15~25°C)에서 보관할 수 있으며, 개봉하지 않은 경우 키트 유효 기한까지 안정적입니다.

## 사용 중 안정성

재구성된 Buffer AW1 및 AW2는 최대 1년 또는 키트 유효 기한 중 더 짧은 기간까지 실온(15~25°C)에 보관할 수 있습니다.

# 시료 보관 및 취급

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit는 FFPE 시료와 함께 사용하도록 개발되었습니다.

DNA 안정성은 시료 채집, 취급, 준비, 보관 조건과 같은 다양한 요인에 따라 달라지며, 이는 다운스트림 공정에서 DNA의 사용에 영향을 미칠 수 있습니다. 특정 다운스트림 공정에 대한 사용 설명서를 확인하고 적절한 조건을 설정하기 위해 전체 작업 흐름을 검증하는 것이 중요합니다.

FFPE 시료의 채집, 취급, 준비, 보관 조건에 대한 실험실 절차에 대한 일반적인 정보는 ISO 20166-3:2018 '체외 분자 진단 검사 - 포르말린 고정 파라핀 포매(Formalin-Fixed and Paraffin-Embedded, FFPE) 조직에 대한 사전 검사 프로세스를 위한 규격 — 파트 3: 분리 DNA' 및 CLSI MM13-A '분자학적 방법을 위한 검체의 채집, 운송, 준비, 보관: 승인된 지침'을 참조하십시오.

DNA가 Buffer ATE에서 용출되고 즉시 증폭 반응에 사용하거나 보관(조건은 사용자 요건에 따라 다름)할 수 있습니다. 특정 QIAGEN 다운스트림 공정에 대한 권장 보관 조건은 관련 키트 안내서를 참조하십시오.

# 절차

## 시작 전 중요 사항

- QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit로 공급되는 모든 시약은 동일한 QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit의 다른 시약과 함께 사용하는 목적으로만 사용해야 합니다. 최적의 성능을 유지하려면 키트의 시약을 대체해서는 안 됩니다.
- 키트를 받은 후 키트 구성품들이 손상되지 않았는지 확인하십시오. 팩이나 완충액 병이 손상된 경우에는 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 문의하십시오. 액체가 누출된 경우 “경고 및 예방 조치”(10페이지)를 참조하십시오. 손상된 키트 구성품은 키트 성능을 떨어뜨릴 수 있으므로 사용하지 마십시오.
- 로트 번호가 동일하지 않으면 다른 키트의 구성품을 현재 사용 중인 키트와 함께 사용하지 마십시오.
- 키트 시약이 미생물로 오염되지 않도록 주의하십시오.
- 이 키트는 체외 진단에 관한 실험실 운영 기준을 교육받은 사람만 사용해야 합니다.
- 시약 및 검체를 취급할 때에는 항상 라텍스나 비닐 장갑을 착용하여 피부 표면이나 먼지가 많은 실험실 장비로부터 오염되지 않도록 하십시오. 손과 먼지 입자에는 박테리아와 곰팡이가 있을 수 있으며, 이는 오염의 일반적인 원인입니다. 장갑을 자주 교체하고 튜브를 닫아 두십시오.
- 미사용 완충액, 통과액 및 검체 잔여물은 현지 절차에 따라 폐기해야 합니다.
- 사용자가 소유한 플라스틱 용기를 사용하는 경우, 전체 정제 절차 동안 안전 뚜껑이 있는 DNase/RNase 무함유 저결합, 일회용 폴리프로필렌 1.5~2 ml 코니칼 튜브를 사용할 것을 권장합니다.
- 모든 원심분리 단계를 실온(15~25°C)에서 수행합니다.
- 모든 완충액은 실온(15~25°C)에서 보관해야 하며 사용 전 잘 혼합해야 합니다.
- 9단계에서 사용하기 위해 열교반기 또는 가열 회전 배양기를 56°C로 설정합니다. 열교반기 또는 가열 회전 배양기를 사용할 수 없으면 가열 블록 또는 수조를 대신 사용할 수 있습니다.

- Buffer AL 또는 Buffer ATL에 침전물이 있으면 70°C로 가열하고 약하게 진탕시켜 용해시킵니다.
- Buffer AW1 및 Buffer AW2가 아래 지침에 따라 준비되었는지 확인합니다.
- QIAGEN의 정도 관리 절차에서는 각 개별 키트 로트에 대해 기능적 키트 출고 검사를 사용합니다. 따라서 서로 다른 키트 로트의 시약을 혼합하지 말고, 서로 다른 시약 로트의 개별 시약을 혼합하지 마십시오.

## 완충액 준비

### Buffer ATL 준비

- 절차를 시작하기 전에 Buffer ATL에 침전물이 형성되었는지 점검합니다. 필요하다면 70°C로 가열하고 약하게 진탕시켜 용해시킵니다.

### Buffer AL 준비

- 절차를 시작하기 전에 Buffer AL에 침전물이 형성되었는지 점검합니다. 필요하다면 70°C로 가열하고 약하게 진탕시켜 용해시킵니다.

## Buffer AW1 준비

- 19 ml의 농축 Buffer AW1이 들어 있는 병에 25 ml의 에탄올(96~100%)\*을 추가합니다. 병 라벨의 체크박스에 체크하여 에탄올이 추가되었음을 표시합니다. 재구성된 Buffer AW1은 1년 또는 키트 유효 기한 중 더 짧은 기간까지 실온(15~25°C)에 보관할 수 있습니다. 완충액 라벨에 재구성 날짜를 기입할 것을 권장합니다.

참고: 절차를 시작하기 전에, 재구성된 Buffer AW1을 흔들어 혼합하십시오.

## Buffer AW2 준비

- 13 ml의 농축 Buffer AW2가 들어 있는 병에 30 ml의 에탄올(96~100%)\*을 추가합니다. 병 라벨의 체크박스에 체크하여 에탄올이 추가되었음을 표시합니다. 재구성된 Buffer AW2는 1년 또는 키트 유효 기한 중 더 짧은 기간까지 실온(15~25°C)에 보관할 수 있습니다. 완충액 라벨에 재구성 날짜를 기입할 것을 권장합니다.

참고: 절차를 시작하기 전에, 재구성된 Buffer AW2를 흔들어 혼합하십시오.

## 시재료

DNA 정제용 시재료는 FFPE 조직 절편입니다(갓 자른 것이 이상적). 여러 절편을 1회의 준비 과정에서 결합할 수 있습니다. 시재료의 특성에 관한 정보가 없으면 준비 과정당 절편을 3개 이하로 시작하는 것이 좋습니다.

사용자는 실험실에서 사용되는 모든 절차에 대해 절편 수, 절편 두께, 절편 표면 영역을 최적화해야 합니다. 키트를 QIAGEN 다운스트림 공정과 함께 사용하는 경우, 관련 안내서에서 지침을 확인하십시오.

\* 메탄올 또는 메틸에틸케톤과 같은 기타 물질을 함유한 변성 알코올은 사용하지 마십시오.

## 교차 오염 방지를 위한 취급 절차

핵산 증폭 기술의 민감성 때문에 QIAamp MinElute 컬럼을 취급할 때는 검체 간 교차 오염을 피하기 위해 다음과 같은 예방 조치가 필요합니다.

- 튜브에 조직을 넘치도록 채우지 마십시오.
- 조직을 긁을 때 검체 간에 메스를 교체합니다.
- 검체 또는 용액을 QIAamp MinElute 컬럼에 조심스럽게 넣습니다. 컬럼의 테두리에 묻지 않도록 주의하면서 검체를 QIAamp MinElute 컬럼에 피펫팅합니다.
- 액체를 옮길 때마다 항상 피펫 팁을 교체하십시오. 에어로졸 장벽 피펫 팁을 사용하는 것이 좋습니다.
- 검체 세척 단계를 수행할 때는 항상 새 세척 튜브를 사용합니다.
- 볼텍싱 및 원심분리 전에 튜브 뚜껑이 완전히 닫혀 있는지 확인합니다.
- 원심분리 전에 QIAamp MinElute 컬럼이 완전히 닫혀 있는지 확인합니다.
- 모든 펄스-볼텍싱 단계 및 90°C 배양 단계가 끝나면 마이크로 원심분리기 튜브를 짧게 원심분리하여 뚜껑 안쪽의 액체 방울을 제거합니다.
- 한 번에 1개의 QIAamp MinElute 컬럼만 개봉하고 에어로졸이 생성되지 않도록 주의하십시오.
- 항상 검체 간에 메스를 교체하십시오.
- 액체를 옮길 때마다 항상 피펫 팁을 교체하십시오. 교차 오염을 최소화하기 위해 에어로졸 장벽 피펫 팁을 사용하고 다단계 피펫 사용을 피하는 것이 좋습니다.
- 항상 일회용 장갑을 사용하고, 장갑이 검체 재료로 오염되지 않았는지 정기적으로 확인하십시오. 장갑이 오염된 것으로 의심되면 폐기하십시오.
- 한 번에 1개의 튜브만 개봉하십시오.

## 원심분리

QIAamp MinElute 컬럼은 대부분의 표준 1.5~2 ml 마이크로 원심분리기 튜브에 적합합니다. 원심분리기 소음을 줄이기 위해 QIAamp MinElute 컬럼의 원심분리는 약 6000 x g에서 수행됩니다. 최대 속도에서의 원심분리는 DNA 수율을 높이지 않습니다. 그러나 QIAamp MinElute 컬럼을 최대 속도로 원심분리하려면 막 세척 후 건조 원심분리 단계와 용출 단계로 이루어진 2단계의 절차가 필요합니다. 또한 크실렌 처리 및 에탄올 세척 단계 후 검체를 분리하는 데에도 최대 속도의 원심분리가 필요합니다.

모든 원심분리 단계는 실온(15~25°C)에서 수행해야 합니다. 낮은 원심분리 온도는 최적이지 아닌 추출로 이어질 수 있습니다.

### 마이크로 원심분리기에서의 QIAamp MinElute 컬럼 처리

- 항상 QIAamp MinElute 컬럼을 닫은 후 마이크로 원심 분리기에 넣습니다.
- 피펫 팁으로 QIAamp MinElute 컬럼 막을 건드리지 마십시오.
- 통과액 분획에는 유해 폐기물이 들어 있을 수 있으므로 적절하게 폐기해야 합니다.
- 여러 검체의 효율적인 병렬 처리를 위해서는 원심분리 후 QIAamp MinElute 컬럼을 옮길 수 있도록 랙에 세척 튜브를 채우는 것이 좋습니다. 통과액이 들어 있는 사용한 세척 튜브는 폐기할 수 있으며, QIAamp MinElute 컬럼이 들어 있는 새로운 세척 튜브는 마이크로 원심분리기에 직접 배치할 수 있습니다.
- 전체 과정에서 완전한 검체 추적성이 유지되도록 합니다.

## 정제된 DNA 용출

작은 시작 용량이 필요한 다운스트림 공정(예: 일부 PCR 분석)의 경우, 보다 농축된 용출액은 분석 민감도를 증가시킬 수 있으나 잠재적 억제 물질의 농도 증가를 초래할 수도 있습니다.

용출량의 증가는 용출액에서 DNA의 농도를 감소시킬 것입니다.

회수되는 용출액의 양은 QIAamp MinElute 컬럼에 적용된 Buffer ATE의 양보다 약 5  $\mu$ l 적을 수 있습니다. 예를 들어, 용출량이 20  $\mu$ l이면 용출액은  $\geq 15$   $\mu$ l가 됩니다. 회수되는 용출량은 검체의 성질에 따라 다릅니다.

실험실에서 사용되는 모든 절차에 대해 용출량을 최적화하는 것은 사용자의 책임입니다. 특정 QIAGEN 다운스트림 공정에 필요한 권장 용출량은 관련 키트 안내서를 참조하십시오.

예를 들어, 원심분리 5분 전에 실온에서 Buffer ATE로 컬럼을 배양하면 수율이 증가할 수 있습니다. 용출된 DNA는 1.5 ml 용출 튜브(제공됨)에 수집할 수 있습니다. 용출된 DNA의 보관 조건은 사용자 정의 요건에 따라 다릅니다. 특정 QIAGEN 다운스트림 공정에 대한 권장 보관 조건은 키트 안내서를 참조하십시오.

# 프로토콜: FFPE 조직 절편에서 유전체 DNA 분리

## 절차

1. 메스를 사용하여 검체 블록에서 여분의 파라핀을 잘라냅니다.
2. 표준 실험실 운영 기준에 따라 절편을 자릅니다("시재료", 17페이지 참조). 사용자는 실험실에서 사용되는 모든 절차에 대해 절편 수, 절편 두께, 절편 표면 영역을 최적화해야 합니다. 전체 절차 동안 검체 추적성이 유지되도록 합니다.
3. 용해 튜브(제공됨)에서 멸균 메스를 사용하여 절편으로부터 조직을 즉시 긁어냅니다. 모든 이용 가능한 조직을 튜브 안에 넣습니다. 크실렌 1 ml를 검체에 첨가하고, 뚜껑을 닫은 뒤 파라핀이 용해될 때까지 세게 볼텍싱합니다(예: 10초). 크실렌 유출, 검체 간 교차 오염 및 크실렌과의 접촉 가능성을 방지하기 위해 튜브가 완전히 닫혀 있는지 확인합니다.

참고: 흠 후드 또는 기타 적절한 봉쇄 기구 안에서 크실렌을 사용합니다.

4. 조직 펠릿을 수집하기 위해 약 2분 동안 실온에서 최대 속도로 원심분리합니다. 조직 펠릿이 형성되지 않으면 이 단계를 반복합니다.

참고: 낮은 원심분리 온도는 최적이지 아닌 추출로 이어질 수 있습니다.

5. 피펫으로 상층액을 분리하여 폐기합니다. 펠릿을 남겨 둡니다.

상층액에는 유해 폐기물인 크실렌이 들어 있으므로 현지 규정에 따라 적절하게 폐기해야 합니다.

6. 1 ml 에탄올(96~100%)을 조직 펠릿에 첨가하고, 볼텍싱하여 완전히 혼합합니다.

에탄올로 검체에서 잔여 크실렌을 추출하고 적절히 폐기합니다.

7. 약 2분 동안 실온에서 최대 속도로 원심분리합니다.

피펫팅으로 상층액을 조심스럽게 제거합니다. 펠렛은 제거하지 않습니다.

피펫 팁을 사용하여 신중하게 잔여 에탄올을 제거합니다. 모든 잔여 에탄올이 증발할 때까지 튜브를 열고 15~40°C에서 배양합니다. 잔여 에탄올 제거는 추출 성공을 위해 매우 중요합니다.

참고: 보다 낮은 배양 온도는 증발 시간을 늦추는 반면, 보다 높은 온도는 현탁시키기가 어렵도록 펠렛을 지나치게 건조시킬 수 있습니다.

8. 펠렛을 180 µl의 Buffer ATL에 재현탁시킵니다. 20 µl 단백질분해효소 K를 첨가하고, 볼텍싱하여 혼합합니다.

참고: 최대 수율 회수를 보장하려면 펠렛을 ATL 완충액에 잘 재현탁시켜야만 합니다.

9. (검체가 완전히 용해될 때까지) 56°C에서 약 1시간 동안 배양합니다.

10. 90°C에서 1시간 동안 배양합니다.

90°C에서 Buffer ATL에 배양하는 경우 핵산의 포름알데히드 변형이 부분적으로 역전됩니다. 더 짧은 배양 시간 또는 더 낮은 배양 온도는 DNA 품질 및 양에 영향을 미칠 수 있습니다. 가열 블록을 1개만 사용하는 경우, 56°C 배양 후 가열 블록이 90°C에 도달할 때까지 검체를 실온에 둡니다.

11. 튜브를 짧게 원심분리하여 뚜껑 안쪽에서 액체 방울을 제거합니다.

12. 검체에 200 µl의 Buffer AL을 첨가하고 볼텍싱하여 철저히 혼합합니다. 그런 다음, 200 µl 에탄올(96~100%)을 첨가하고 볼텍싱하여 완전히 혼합합니다.

균일한 용액을 얻기 위해서는 검체, Buffer AL 및 에탄올을 즉시 볼텍싱 또는 피펫팅하여 완전히 혼합하는 것이 필수적입니다. 여러 검체를 처리하는 경우 시간을 절약하기 위해 Buffer AL과 에탄올을 사전 혼합하여 1단계에서 함께 섞을 수 있습니다. Buffer AL과 에탄올을 첨가하면 흰색 침전물이 형성될 수 있습니다. 이 침전물은 QIAamp 절차에 방해가 되지 않습니다. 항상 신선한 혼합물을 사용하고 사용 후에는 즉시 폐기합니다.

13. 튜브를 짧게 원심분리하여 뚜껑 안쪽에서 액체 방울을 제거합니다.

14. 전체 용해물을 테두리를 적시지 않도록 QIAamp MinElute 컬럼(2 ml 세척 튜브)으로 조심스럽게 옮기고 뚜껑을 닫은 후  $6000 \times g$ 에서  $\geq 1$ 분간 원심분리합니다.  
QIAamp MinElute 컬럼을 깨끗한 2 ml 세척 튜브(제공됨)에 넣고 통과액이 들어 있는 세척 튜브를 폐기합니다.  
원심분리 후 용해물이 막을 완전히 통과하지 않았다면 QIAamp MinElute 컬럼이 비워질 때까지 더 빠른 속도로 다시 원심분리합니다.
15. QIAamp MinElute 컬럼을 조심스럽게 열고 테두리에 묻지 않도록 주의하여 재구성된 Buffer AW1 500  $\mu$ l를 첨가합니다. 뚜껑을 닫고 약  $6000 \times g$ 로  $\geq 1$ 분간 원심분리합니다.  
QIAamp MinElute 컬럼을 깨끗한 2 ml 세척 튜브에 넣고 통과액이 들어 있는 튜브는 폐기합니다.
16. QIAamp MinElute 컬럼을 조심스럽게 열고 테두리에 묻지 않도록 주의하여 재구성된 Buffer AW2 500  $\mu$ l를 첨가합니다. 뚜껑을 닫고  $6000 \times g$ 로  $\geq 1$ 분 동안 원심분리합니다.  
QIAamp MinElute 컬럼을 깨끗한 2 ml 세척 튜브에 넣고 통과액이 들어 있는 튜브는 폐기합니다.  
QIAamp MinElute 컬럼과 통과액이 접촉하지 않도록 해야 합니다. 원심분리 로터가 균형을 이루도록 합니다. 일부 원심분리 로터는 감속 시 진동하므로 에탄올을 함유한 통과액이 QIAamp MinElute 컬럼과 접촉할 수 있습니다. 로터에서 QIAamp MinElute 컬럼과 세척 튜브를 꺼낼 때는 주의를 기울여 통과액이 QIAamp MinElute 컬럼과 접촉하지 않도록 합니다.
17. 최대 속도(약  $20,000 \times g$ )로 약 3분 동안 원심분리하여 막을 건조시킵니다.  
용출액으로 에탄올이 캐리오버되면 다운스트림 공정을 방해할 수 있습니다.

18. QIAamp MinElute 컬럼을 깨끗한 1.5 ml 용출 튜브(제공됨)에 넣고 통과액이 들어 있는 세척 튜브를 폐기합니다. QIAamp MinElute 컬럼의 뚜껑을 조심스럽게 열고 20~200  $\mu$ l의 Buffer ATE를 막 중앙에 가합니다.

중요: 소량의 용출량(<50  $\mu$ l)을 사용하는 경우 결합된 DNA의 완전한 용출을 위해 Buffer ATE를 막의 중심에 분배해야 합니다. QIAamp MinElute 컬럼은 용출량 선택에 유연성을 제공합니다. 다운스트림 공정의 요건에 따라 용량을 선택합니다. 용출액의 양은 컬럼에 적용된 용출 완충액의 양보다 약 5  $\mu$ l 적을 것입니다.

19. 뚜껑을 닫고 실온(15~25°C)에서 최소 1분 동안 배양합니다. 최대 속도(약 20,000 x g)로  $\geq$ 1분간 원심분리합니다.

원심분리 전 실온에서 약 5분 동안 Buffer ATE가 로드된 QIAamp MinElute 컬럼을 배양하면 DNA 수율이 증가할 수 있습니다.

## 정도 관리

QIAGEN의 ISO 인증 품질 관리 시스템에 따라 QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit의 각 로트는 제품 품질의 일관성을 보장하기 위해 사전 결정된 사양에 대해 테스트됩니다.

## 제한 사항

이 키트의 성능은 FFPE 조직을 사용하여 유전체 DNA의 분리에 대해 검증되었습니다.

고정이 부족하거나 과도하게 고정되면 DNA 품질에 영향을 미쳐 다운스트림 분석의 성능이 저하될 수 있습니다.

장류 포르말린은 단백분해효소 K 분해 단계를 억제할 수 있으므로 포매 전 샘플을 철저히 탈수시켜야 합니다.

사용자 실험실의 절차가 QIAGEN 성능 시험의 범위 내에 속하지 않는 경우에 시스템 성능을 검증하는 작업은 사용자의 책임입니다.

진단 결과에 부정적인 영향을 미칠 수 있는 위험을 최소화하려면 다운스트림 분석에 적절한 대조물질을 사용해야 합니다. 추가적인 검증을 위해서는 ICH Q2(R1) 분석 절차 검증: 텍스트 및 방법론 (*ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology*)에 있는 의약품국제조화회의(International Conference on Harmonization of Technical Requirements, ICH)의 지침이 권장됩니다.

생성된 모든 진단 결과는 다른 임상 또는 실험실 결과와 함께 해석해야 합니다.

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit를 사용하면, RNA가 검체 안에 있을 경우 DNA와 동반 정제될 수 있습니다.

# 성능 특징

적용 가능한 성능 특징은 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)의 제품 페이지 리소스 탭에서 확인할 수 있습니다.

# 문제 해결 가이드

이 문제 해결 가이드는 발생 가능한 문제를 해결하는 데 도움을 줄 수 있습니다. 더 자세한 정보는 또한 당사 기술 지원 센터의 자주 묻는 질문(Frequently Asked Questions, FAQ) 페이지를 참조하십시오. [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). QIAGEN 기술 서비스 소속 과학자들은 본 안내서의 정보 및/또는 프로토콜 또는 검체 및 분석 기술에 대해 가질 수 있는 어떠한 질문이든 기꺼이 답변해 드립니다(연락처 정보는 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)을 방문하십시오).

## 의견 및 제안

### QIAamp MinElute 컬럼이 막힘

- |                   |   |
|-------------------|---|
| a) 시재료가 너무 많음     | 시재료의 양을 줄이십시오. 정확한 양의 시재료를 사용해야 합니다(17페이지 참조).  |
| b) 원심분리 온도가 너무 낮음 | 원심분리 온도는 15~25°C여야 합니다. 일부 원심분리기는 20°C로 설정한 경우에도 15°C 아래로 냉각될 수 있습니다. 이 경우 QIAamp MinElute 컬럼을 막는 침전물이 형성될 수 있습니다. 이러한 현상이 발생하면 원심분리 온도를 15~25°C로 설정하십시오. |

### 낮은 DNA 수율

- |  |   |
|--|---|
| a) 시재료가 너무 많음                                    | QIAamp MinElute Spin Column 가 과부하되면 핵산 수율이 크게 감소합니다. 시재료의 양을 줄이십시오(17페이지 참조).                                       |
| b) DNA가 여전히 RNeasy MinElute Spin Column 막에 붙어 있음 | DNA 용출을 반복하되 원심분리 전에 ATE 완충액(용출 완충액)을 사용하여 실험대에서 QIAamp MinElute 스피ن 컬럼을 10분 동안 배양합니다.                              |
| c) 완충액/시약의 잘못된 보관                                | QIAamp MinElute Spin Columns 는 키트 도착 즉시 2~8°C에서 보관해야 합니다. 더 높은 온도에 더 긴 시간 동안 노출되면 기능이 저하될 수 있으므로 올바른 보관 온도를 확인하십시오. |

### 낮은 $A_{260}/A_{280}$ 값

$A_{260}/A_{280}$  측정을 위해 핵산을 희석할 때 물을 사용

순도 측정 전에 10 mM Tris Cl, pH 7.5(물 아님)를 사용하여 검체를 희석하십시오.

## 의견 및 제안

---

### DNA가 다운스트림 분석/공정에서 제대로 기능하지 못함

에탄올 캐리오버

QIAamp MinElute 컬럼을 최대 속도로 원심분리하려면 2단계의 절차가 필요합니다. Buffer AW2로 두 번째 세척하는 동안 15~25°C에서  $\geq 8,000 \times g$ 로 2분 동안 원심분리하여 QIAamp MinElute 스피ن 컬럼 막을 건조합니다. 원심분리 후 컬럼이 통과액에 접촉되지 않도록 채집 튜브에서 컬럼을 조심스럽게 제거합니다. 그런 다음, 컬럼을 새 채집 튜브에 넣고 최고 속도로 5분 동안 원심분리합니다. 또한 크실렌 처리 및 에탄올 세척 단계 후 검체를 분리하는 데에도 최대 속도의 원심분리가 필요합니다.

# 기호

사용 설명서 또는 포장물 및 라벨에는 다음과 같은 기호가 표시됩니다.

기호	기호 정의
 <N>	<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
	카탈로그 번호
	로트 번호
	물질 번호(즉 구성품 라벨링)
	구성품
	내용물
	수
	국제 거래 단위 번호

## 기호

## 기호 정의

Rn

R은 사용 설명서의 개정판 버전을 나타내며, n은 개정판 번호입니다



온도 제한



제조업체



사용 설명서 참조



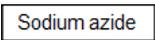
직사광선을 피할 것



경고/주의



단백분해효소 K



아지드화 나트륨



도착 즉시



에탄올을 병에 첨가한 후 날짜를 기록하십시오



에탄올

## 기호

## 기호 정의

<b>ADD</b>	첨가
<b>GuHCl</b>	염산 구아니딘
<b>MALEIC ACID</b>	말레산
<b>UDI</b>	의료기기 고유식별코드

# 부록: 취급

## 일반 취급

시약 및 검체를 취급할 때에는 항상 라텍스나 비닐장갑을 착용하여 피부 표면이나 먼지가 많은 실험실 장비로부터 오염되지 않도록 하십시오. 손과 먼지 입자에는 박테리아와 곰팡이가 있을 수 있으며, 이는 오염의 일반적인 원인입니다. 장갑을 자주 교체하고 튜브를 닫아 두십시오. 키트 시약이 미생물로 오염되지 않도록 주의하십시오.

## 일회용 플라스틱 용기

절차 전반에 걸쳐 멸균된 일회용 폴리프로필렌 튜브를 사용하는 것이 좋습니다.

# 주문 정보

제품	목차	카탈로그 번호
QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit - 파라핀 포매 조직으로부터 유전체 DNA 정제용		
QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (50)	50개 DNA 준비용: 50개 QIAamp MinElute 컬럼, 단백질분해효소 K, 완충액, 세척 튜브(2 ml), 용출 튜브(1.5 ml), 용해 튜브(2 ml)	60404

최신 라이선스 정보 및 제품별 면책 사항은 각 QIAGEN 키트 사용 설명서를 참고하십시오. QIAGEN 키트 사용 설명서는 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)에서 확인하거나 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 요청할 수 있습니다.

# 문서 개정 이력

개정판	설명
R1, 2022년 6월	<ul style="list-style-type: none"><li>● IVDR 준수를 위해 키트 버전 2로 업데이트</li><li>● 설명 및 원리 섹션 업데이트</li><li>● 필요하지만 제공되지 않는 품목 섹션 업데이트</li><li>● 경고 및 예방 조치 섹션 업데이트</li><li>● 시약 보관 및 취급 섹션 업데이트</li><li>● 문제 해결 가이드 섹션 업데이트</li><li>● 부록 업데이트</li></ul>
R2, 2023년 2월	<ul style="list-style-type: none"><li>● 시료 보관 및 취급 섹션 업데이트</li></ul>

### QIAamp DSP DNA Kit의 제한적 라이선스 계약

본 제품을 사용하는 것은 제품의 구매자 또는 사용자가 다음의 조건에 동의함을 나타냅니다.

1. 이 제품은 오직 제품과 함께 제공된 프로토콜과 이 안내서에 따라 사용해야 하며, 패널에 포함된 구성품만 함께 사용할 수 있습니다. QIAGEN은 제품과 함께 제공된 프로토콜, 이 안내서 및 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)에서 제공하는 추가 프로토콜에 기술된 바와 같은 경우를 제외하고, 그의 지적 재산권 하에서 이 패널에 포함된 구성품을 이 패널에 포함되지 않은 구성품과 함께 사용하거나 통합할 수 있는 라이선스를 허여하지 않습니다. 이러한 추가 프로토콜의 일부는 QIAGEN 사용자를 위해 QIAGEN 사용자가 제공한 것입니다. QIAGEN에서 이 프로토콜을 철저히 검사하거나 최적화하지 않았습니다. QIAGEN은 이를 보장하지 않으며 제3자의 권한을 침해하지 않는다는 것도 보증하지 않습니다.
2. 명시적으로 설명한 라이선스 이외에 QIAGEN은 이 패널 및/또는 이 패널의 사용이 제3자의 권리를 침해하지 않음을 보증하지 않습니다.
3. 이 패널 및 구성품은 일회 사용에 대해 라이선스가 허여되며 재사용, 재정비 또는 재판매할 수 없습니다.
4. QIAGEN은 명시적으로 설명한 경우 이외에 명시 또는 암시한 다른 라이선스는 명확히 부인합니다.
5. 패널의 구매자 및 사용자는 위에서 금지한 행위로 이어지거나 그러한 행위를 조장할 수 있는 조치를 취하거나 다른 사람이 그렇게 하도록 허용하지 않는다는 데 동의합니다. QIAGEN은 어떤 법정에서든 이 제한적 라이선스 계약의 금지를 주장할 수 있으며, 패널 및/또는 그것의 구성품과 관련된 이 제한적 라이선스 계약 또는 그것의 지적재산권을 주장하기 위한 어떤 소송에서 변호사 비용을 포함하여 그의 모든 조사 및 법정 비용을 회수할 수 있습니다.

업데이트된 라이선스 조항은 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)을 참조하십시오.

상표: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, MinElute®(QIAGEN 그룹); Sarstedt®(Sarstedt AG and Co.).

2월-2023 HB-3033-002 1130780KO © 2023 QIAGEN, 모든 권한 보유.

