

Februar 2017

# Håndbog til QIAamp<sup>®</sup> DSP DNA FFPE Tissue-kit



Version 1

**IVD**

Til in vitro-diagnostisk brug



**REF**

60404



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,  
TYSKLAND

R3 **MAT**

1062689DA



# Indhold

Tilsigtet anvendelse .....	5
Opsummering og forklaring .....	5
Procedureprincip .....	6
Medfølgende materialer .....	8
<b>Kit-indhold .....</b>	<b>8</b>
Nødvendige materialer, som ikke medfølger .....	9
Advarsler og forholdsregler .....	10
Opbevaring og håndtering af reagenser .....	11
Prøvehåndtering og -opbevaring .....	12
Procedure .....	13
Klargøring af buffere .....	14
Startmateriale .....	15
Håndteringsprocedure for at undgå krydskontaminering .....	15
Centrifugering .....	16
Behandling af QIAamp MinElute-kolonner i en mikrocentrifuge .....	17
Eluering af oprenset DNA .....	17
Protokol: Isolering af genomisk DNA fra FFPE-vævssektioner .....	19
Kvalitetskontrol .....	23
Begrænsninger .....	23
Ydelsesegenskaber .....	24
Symboler .....	24
Kontaktoplysninger .....	25
Bestillingsinformation .....	26



---

# Tilsigtet anvendelse

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kit er et system, der anvender silicamembranteknologi (QIAamp-teknologi) til isolering og oprensning af genomisk DNA fra formalinfikserede, paraffinindstøbte (formalin-fixed, paraffin-embedded, FFPE) biologiske prøver.

Produktet er beregnet til at blive brugt af professionelle brugere, som f.eks. teknikere og læger, som er uddannede i teknikker inden for molekylærbiologi til in vitro-diagnostik (IVD). Det er beregnet til manuel prøveklargøring og giver ingen testresultater, hverken kvalitative eller kvantitative.

## Opsummering og forklaring

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kit anvendes til oprensning af DNA fra FFPE-vævssektioner. Det bruger veletableret QIAamp DNA Micro-teknologi til oprensning af genomisk og mitokondrisk DNA fra små prøvemængder eller størrelser. Kittet kombinerer en silicabaseret membrans selektive bindingsegenskaber med fleksible elueringsmængder.

Lyseringsbetingelser gør det muligt for genomisk DNA at blive effektivt oprenset fra FFPE-vævssektioner uden behov for inkubation natten over. Inkubation ved en forhøjet temperatur efter opløsning af proteinase K fjerner delvist formalintværbinding af det frigivne DNA for potentielt at forbedre udbyttet af DNA-resultater i efterfølgende analyser. Bemærk, at DNA isoleret fra FFPE-prøver normalt har en lavere molekylvægt end DNA fra friske eller frosne prøver. Graden af fragmentering afhænger af prøvens type og alder samt de betingelser, der anvendes ved fiksering.

Efter prøvelysis er den enkle QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-procedure velegnet til samtidig behandling af mange prøver.

---

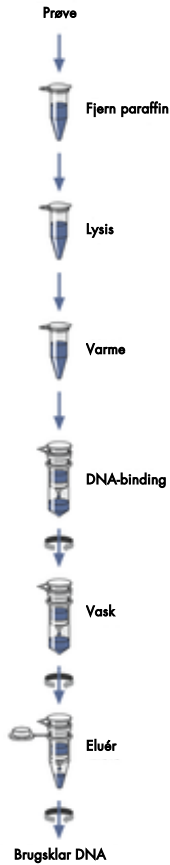
Det er brugerens ansvar at kontrollere systemets egnethed til eventuelle procedurer, der udføres i laboratoriet og ikke er omfattet af QIAGENs ydelsesundersøgelser, som er beskrevet i håndbogen.

## Procedureprincip

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-procedure består af seks trin (Figur 1):

- Fjernelse af paraffin: Paraffin opløses i xylene og fjernes.
- Lysis: Prøver lyses ved 56 °C under denatureringsforhold med proteinase K
- Varme: Inkubation ved 90 °C ophæver formalintværbinding
- Binding: DNA bindes til membranen og kontaminerer gennemløb
- Vask: Resterende urenheder vaskes væk
- Eluér: Ren, koncentreret DNA elueres fra membranen

## QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Procedure



Figur 1. QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-procedure.

# Medfølgende materialer

## Kit-indhold

<b>QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit</b>			<b>(50)</b>
<b>Katalognr.</b>			<b>60404</b>
<b>Antal reaktioner</b>			<b>50</b>
QIAamp MinElute®	QIAamp MinElute-kolonner med vaskerør	<b>COL</b>	50
WT	Wash Tubes (Vaskerør) (2 ml)	<b>WASH TUBE</b>	3 x 50
ET	Elution Tubes (Elueringsrør) (1,5 ml)	<b>ELU TUBE</b>	50
LT	Lysis Tubes (Lysisrør) (2 ml)	<b>LYS TUBE</b>	50
ATL	Tissue Lysis Buffer (Vævslysisbuffer)	<b>TIS LYS BUF</b>	10 ml
AL	Lysis Buffer* (Lysisbuffer)	<b>LYS BUF</b>	12 ml
AW1	Wash Buffer 1* (concentrate) (Vaskebuffer 1 (koncentrat))	<b>WASH BUF 1 CONC</b>	19 ml
AW2	Wash Buffer 2† (concentrate) (Vaskebuffer 2 (koncentrat))	<b>WASH BUF 2 CONC</b>	13 ml
ATE	Elution Buffer† (Elueringsbuffer)	<b>ELU BUF</b>	12 ml
PK	Proteinase K (Proteinase K)	<b>PROTK</b>	1,25 ml
–	Brugsanvisning (Håndbog)	<b>H B</b>	1

\* Indeholder et guanidinsalt. Ikke kompatibel med desinfektionsmidler, der indeholder blegemiddel. Se side 10 for advarsler og forholdsregler.

† Indeholder natriumazid som konserveringsmiddel.



# Nødvendige materialer, som ikke medfølger

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der findes flere oplysninger i de tilhørende sikkerhedsdatablade (safety data sheets, SDS'er), som kan fås hos produktets leverandør.

## Reagenser

- Xylen
- Ethanol (96-100 %)\*

## Forbrugsartikler

- Hvis der træffes beslutning om ikke at anvende rørene i kittet, anbefaler vi 1,5 ml eller 2 ml mikrocentrifugerør (til lysistrin) og 1,5 ml mikrocentrifugerør (til elueringsstrin) (leveres af Eppendorf® [Safe-Lock: kat. nr. 022363204, USA; kat. nr. 0030 120.086, Europa], eller Sarstedt [kat. nr. 72.690]). Vi anbefaler DNase/RNase-fri, koniske rør med spændelåg.
- Pipetter og pipettespidser (for at forhindre krydskontaminering anbefaler vi stærkt pipettespidser med aerosolskærme)

## Udstyr

- Thermomixer†, opvarmet orbital inkubator, varmeblok eller vandbad, der kan inkubere ved 56 °C, 70 °C og 90 °C
- Mikrocentrifuge† med rotor til 2 ml rør
- Vortexer

\* Der må ikke bruges denatureret alkohol, som indeholder andre stoffer som f.eks. metanol eller methylethylketon.

† For at sikre, at prøverne er behandlet korrekt i QIAamp DSP DNA FFPE-procedurene, anbefaler vi stærkt, at instrumenter kalibreres i henhold til fabrikantens anbefalinger.

# Advarsler og forholdsregler

Til in vitro-diagnostisk brug

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der findes flere oplysninger i de tilhørende sikkerhedsdatablade (SDS'er). Disse er tilgængelige online i et praktisk og kompakt PDF-format på adressen [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), hvor det er muligt at finde, få vist og udskrive SDS'et for hvert QIAGEN®-kit og samtlige kitkomponenter.



**FORSIGTIG: Tilsæt IKKE blegemiddel eller sure opløsninger direkte til væskeaffaldet fra prøveklargøringen.**

Buffer AL og Buffer AW1 indeholder guanidinhydrochlorid, som kan danne højt reaktive forbindelser, når de kombineres med blegemiddel.

Hvis der spildes væske, der indeholder disse buffere, rengøres med egnet rengøringsmiddel til laboratorier og vand. Hvis den spildte væske indeholder potentielt smittefarlige stoffer, rengøres det påvirkede område først med rengøringsmiddel til laboratorier og vand og dernæst med 1 % (v/v) natriumhypochlorit.

Følgende fare- og sikkerhedssætninger gælder komponenter i QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kittet.

#### Buffer AL



Indeholder: guanidinhydrochlorid; maleinsyre. Advarsel! Kan være farlig ved indtagelse eller ved indånding. Forårsager hudirritation. Forårsager alvorlig øjenirritation. Kan forårsage allergisk hudreaktion. Ved vedvarende øjenirritation: Søg lægehjælp. VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. VED KONTAKT MED HUDEN: Vask med rigeligt sæbe og vand. Ved hudirritation: Søg lægehjælp. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

#### Buffer ATL



Advarsel! Medfører lettere hudirritation. Ved hudirritation: Søg lægehjælp.

#### Buffer AW1



Indeholder: guanidinhydrochlorid. Advarsel! Farlig ved indtagelse eller ved indånding. Forårsager hudirritation. Forårsager alvorlig øjenirritation. I tilfælde af ubehag ring til en GIFTINFORMATION eller en læge. Indholdet/beholderen bortskaffes i overensstemmelse med kommunale regler for affaldshåndtering. Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

#### Proteinase K



Indeholder: Proteinase K. Fare! Medfører lettere hudirritation. Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding. Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. Indholdet/beholderen bortskaffes i overensstemmelse med kommunale regler for affaldshåndtering. Ved luftvejssymptomer: Ring til en GIFTINFORMATION eller en læge. VED INDÅNDING: Ved vejrtrækningsbesvær: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vedkommende hviler i en stilling, som letter vejrtrækningen. Anvend åndedrætsværn.

## Opbevaring og håndtering af reagenser

QIAamp MinElute-kolonner skal opbevares ved temperaturer på 2-8 °C efter ankomst, og de kan bruges indtil udløbsdatoen, der står på kittets kasse.

Alle buffere kan opbevares ved stuetemperatur (15-25 °C) og er stabile indtil kittets udløbsdato. Rekonstitueret Buffer AW1 og AW2 kan dog opbevares ved stuetemperatur (15-25 °C) i op til 1 år eller indtil kittets udløbsdato, alt efter hvad der er kortest.

---

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-sættet indeholder en brugsklar proteinase K-opløsning, som leveres i en specielt formuleret opbevaringsbuffer. Proteinase K er stabil indtil kittets udløbsdato ved opbevaring ved stuetemperatur (15-25°C).

## Prøvehåndtering og -opbevaring

Der skal anvendes standardprocedurer for formalinfiksering og paraffinindstøbning for at begrænse omfanget af DNA-fragmentering. Sørg for at:

- Fiksere vævsprøver i formalin i overensstemmelse med laboratorieprotokollen (10 % neutral bufferet formalin accepteres normalt) så hurtigt som muligt efter kirurgisk fjernelse.
- Anvende en fikseringstid på 14-24 timer. Begrænse fikseringstiderne, da længere fiksering (f.eks. > 24 timer) kan føre til mere alvorlig DNA-fragmentering, hvilket resulterer i ringe præstation i efterfølgende analyser.
- Dehydrere prøverne grundigt før indstøbning (restformalin kan hæmme opløsningen af proteinase K).

DNA elueres i Buffer ATE og er omgående klar til brug i amplifikationsreaktioner eller til opbevaring (betingelser afhænger af brugerkrav). Se anbefalede opbevaringsbetingelser for specifikke efterfølgende anvendelser af QIAGEN i de relevante kithåndbøger.

# Procedure

## Vigtige anvisninger før start

- Alle reagenser, der leveres med QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kittet, er udelukkende beregnet til brug sammen med de øvrige reagenser i det samme QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kit. Hvis der skal opnås optimal ydelse, må reagenserne i kittet ikke udskiftes.
- Når du har modtaget kittet, kontrolleres kittets komponenter for beskadigelse. Hvis pakningerne eller bufferflaskerne er beskadigede, kontaktes QIAGENs tekniske service eller den lokale forhandler. I tilfælde af væskespild henvises til "Advarsler og forholdsregler", side 10). Der må ikke anvendes beskadigede kitkomponenter, eftersom deres anvendelse kan føre til ringe ydeevne af kittet.
- Anvend ikke kitkomponenter fra andre kits sammen med det kit, som du i øjeblikket anvender, medmindre lotnumrene er identiske.
- Undgå, at kitreagenserne udsættes for bakteriekontaminering.
- Dette kit må kun anvendes af personale, der er uddannet i in vitro-diagnostisk laboratoriepraksis.
- Derfor skal der altid bæres latex- eller vinylhandsker, når der arbejdes med reagenser eller prøver, for at undgå kontaminering via huden eller fra støvet laboratorieudstyr. Hænder og støvpartikler kan bære bakterier og skimmelsvampe og er en hyppig årsag til kontaminering. Skift laboratoriehandskerne hyppigt og hold rørene lukkede.
- Ubrugte buffere, gennembløb og prøverester skal bortskaffes i overensstemmelse med lokale procedurer.
- Hvis du anvender dine egne plasticprodukter, anbefales brugen af DNase/RNase-fri lavt bindende koniske 1,5-2 ml engangsrør af polypropylen med spændelåg gennem hele oprensningsproceduren.
- Udfør alle centrifugeringstrin ved stuetemperatur (15-25 °C).
- Alle buffere skal opbevares ved stuetemperatur (15-25 °C) og være blandet godt før brug.

- Indstil en thermomixer eller en opvarmet orbital inkubator til 56 °C til anvendelse i trin 11. Hvis der ikke er en tilgængelig thermomixer eller opvarmet orbital inkubator, kan der i stedet benyttes en varmeblok eller et vandbad.
- Hvis Buffer AL eller Buffer ATL indeholder bundfald, opløses det ved opvarmning til 70 °C med forsigtig omrøring.
- Sørg for, at Buffer AW1 og Buffer AW2 er klargjort i henhold til nedenstående instruktioner.
- Kvalitetskontrolprocedurer hos QIAGEN anvender test af funktionel kit-frigivelse for hvert individuelle kit-lot. Derfor må der ikke blandes reagenser fra forskellige kit-lots, og der må ikke kombineres individuelle reagenser fra forskellige reagenslots.

## Klargøring af buffere

### Klargøring af Buffer ATL

- Før proceduren startes, kontrolleres, om der er dannet bundfald i Buffer ATL. Opløs det evt. ved opvarmning til 70 °C med forsigtig omrøring.

### Klargøring af Buffer AL

- Før proceduren startes, kontrolleres, om der er dannet bundfald i Buffer AL. Opløs det evt. ved opvarmning til 70 °C med forsigtig omrøring.

### Klargøring af Buffer AW1

- Tilsæt 25 ml ethanol (96-100 %) til flasken med 19 ml koncentreret Buffer AW1. Afkryds feltet på flaskeetiketten for at angive, at der er blevet tilsat ethanol. Rekonstitueret buffer AW1 kan opbevares ved stuetemperatur (15-25 °C) i op til 1 år eller indtil kittets udløbsdato, alt efter hvad der er kortest. Vi anbefaler at skrive rekonstitueringsdatoen på bufferetiketten.

**Bemærk:** Bland den rekonstituerede Buffer AW1 ved at ryste den, før proceduren påbegyndes.

## Klargøring af Buffer AW2

- Tilsæt 30 ml ethanol (96-100 %) til flasken med 13 ml koncentreret Buffer AW2. Afkryds feltet på flaskeetiketten for at angive, at der er blevet tilsat ethanol. Rekonstitueret buffer AW2 kan opbevares ved stuetemperatur (15-25 °C) i op til 1 år eller indtil kittets udløbsdato, alt efter hvad der er kortest. Vi anbefaler at skrive rekonstitueringsdatoen på bufferetiketten.

**Bemærk:** Bland den rekonstituerede Buffer AW2 ved at ryste den, før proceduren påbegyndes.

## Startmateriale

Startmaterialet til DNA-oprensning er skårne sektioner af FFPE-væv (helst friskskåret). Mange sektioner kan kombineres i en klargøring. Hvis du ikke har information om dit startmateriales beskaffenhed, anbefaler vi, at du starter med højst 3 sektioner pr. klargøring.

Brugeren skal optimere antallet af sektioner, sektionstykkelse og sektionsoverfladeareal for alle procedurer, der udføres i laboratoriet. Se instruktioner i den relevante håndbog, hvis kittet anvendes sammen med en efterfølgende anvendelse af QIAGEN.

## Håndteringsprocedure for at undgå krydskontaminering

På grund af nukleinsyre-amplifikationsmetodernes høje sensitivitet skal følgende forholdsregler overholdes, når der håndteres QIAamp MinElute-kolonner for at undgå krydskontaminering mellem prøver:

- Overfyld ikke rørene med væv.
- Skift skalpel mellem prøver ved afskrabning af væv.
- Tilsæt forsigtigt prøven eller opløsningen i QIAamp MinElute-kolonnen. Pipetter prøven i QIAamp MinElute-kolonnen uden at gøre kolonnens kant våd.

- Udskift altid pipettespidser mellem væskeoverførsler. Vi anbefaler, at der anvendes pipettespidser med aerosolskærme.
- Anvend altid nye vaskerør ved udførelse af prøvevasketrin.
- Sørg for, at rørenes låg er helt lukket før blanding med vortexer og centrifugering.
- Sørg for, at QIAamp MinElute-kolonnen er helt lukket før centrifugering.
- Efter alle puls-vortex-trinene og 90 °C inkubationstrinene centrifugeres mikrocentrifugerørene kortvarigt for at fjerne dråber fra lågenes inderside.
- Åbn kun én QIAamp MinElute-kolonne ad gangen og vær omhyggelig med at undgå aerosol-dannelse.
- Skift altid skalpeller mellem prøver.
- Udskift altid pipettespidser mellem væskeoverførsler. For at minimere krydskontaminering anbefaler vi at anvende pipettespidser med aerosolskærme og at undgå at bruge flertrin pipetter.
- Anvend altid engangshandsker og kontrollér regelmæssigt, om de er kontamineret med prøvemateriale. Bortskaf handskerne, hvis du har mistanke om, at de kan være kontamineret.
- Åbn kun et rør ad gangen.

## Centrifugering

QIAamp MinElute-kolonner passer ind i de fleste almindelige 1,5-2 ml mikrocentrifugerør. 2 ml vaskerør kan yderligere fås separat (QIAGEN, kat. nr. 19201). Centrifugering af QIAamp MinElute-kolonner udføres ved ca. 6000 x g for at reducere centrifugestøj. Centrifugering ved fuld hastighed vil ikke forbedre DNA-udbyttet. Centrifugering af QIAamp MinElute-kolonner ved fuld hastighed er imidlertid påkrævet i to trin i proceduren: tørcentrifugeringstrinnet efter vask af membranerne og elueringstrinnet. Centrifugering ved fuld hastighed er også påkrævet for at nedbringe prøven efter xylenbehandlingen og ethanolvasketrinnet.

Alle centrifugeringstrin skal udføres ved stuetemperatur (15-25 °C). Lav centrifugeringstemperatur kan føre til suboptimal ekstraktion.



## Behandling af QIAamp MinElute-kolonner i en mikrocentrifuge

- Luk altid QIAamp MinElute-kolonnerne, før de anbringes i mikrocentrifugen.
- Undgå at berøre QIAamp MinElute-kolonnemembranen med pipettespidsen.
- Gennemløbsfraktioner kan indeholde farligt affald og skal bortskaffes behørigt.
- For effektiv parallelbehandling af flere prøver på én gang anbefaler vi at fylde et rack med vaskerør, hvori QIAamp MinElute-kolonnerne kan overføres efter centrifugering. Brugte vaskerør med gennemløb kan bortskaffes og de nye vaskerør med QIAamp MinElute-kolonner kan anbringes direkte i mikrocentrifugen.
- Sørg for at bevare fuld sporbarhed under hele processen.

## Eluering af oprenset DNA

For efterfølgende anvendelser, der kræver små startmængder (f.eks. visse PCR-analyser), kan et mere koncentreret eluat øge analysesensitiviteten, men også resultere i en stigning i koncentrationen af potentielle hæmmere.

En øgning i elueringsmængden vil nedsætte koncentrationen af DNA i eluatet.

Den genvundne mængde eluat kan være ca. 5 µl mindre end den mængde Buffer ATE, der blev anvendt på QIAamp MinElute-kolonnen. En elueringsmængde på 20 µl resulterer f.eks. i  $\geq 15$  µl eluat. Mængden af genfundet eluat afhænger af prøvens beskaffenhed.

Det er brugernes ansvar at optimere elueringsmængden for alle procedurer, der anvendes i deres laboratorium. Se anbefalede elueringsmængder, der kræves for specifikke efterfølgende anvendelser af QIAGEN i kithåndbøgerne.

---

Udbyttet kan øges, hvis kolonnen inkuberes med Buffer ATE ved stuetemperatur i f.eks. 5 minutter før centrifugeringen. Elueret DNA kan indsamles i 1,5 ml elueringsrør (vedlagt). Opbevaringsbetingelser for den eluerede DNA afhænger af brugerdefinerede krav. Se anbefalede opbevaringsbetingelser for specifikke efterfølgende anvendelser af QIAGEN i kithåndbøgerne.

# Protokol: Isolering af genomisk DNA fra FFPE-vævssektioner

## Procedure

1. Vha. en skalpel trimmes overskydende paraffin af prøveblokken.
2. Skær sektioner efter almindelig laboratoriepraksis (se "Startmateriale", side 15).  
Brugeren skal optimere antallet af sektioner, sektionstykkelser og sektionsoverfladeareal for alle procedurer, der udføres i laboratoriet. Sørg for, at prøvernes sporbarhed bevares under hele processen.
3. Skrab omgående væv af sektionerne med en steril skalpel i et lysisrør (vedlagt). Sørg for, at alt tilgængeligt væv placeres i røret. Tilsæt 1 ml xylene til prøven, luk låget, og vortex kraftigt, indtil paraffinen opløses (f.eks. 10 sek.). Sørg for, at røret er helt lukket for at undgå xylenspild, krydskontaminering mellem prøverne og mulig kontakt med xylene.  
**Bemærk:** Anvend xylene i røgfang eller et andet passende kontrolapparat.
4. Centrifuger ved fuld hastighed i ca. 2 min. ved stuetemperatur for at indsamle vævspelleten. Gentag dette trin, hvis der ikke dannes en vævspellet.  
**Bemærk:** Lav centrifugeringstemperatur kan føre til suboptimal ekstraktion.
5. Fjern supernatanten ved at pipettere, og kassér den. Gem pelleten.  
Supernatanten indeholder xylene, som er farligt affald og skal bortskaffes korrekt i overensstemmelse med lokale bestemmelser.
6. Tilsæt 1 ml ethanol (96-100 %) til vævspelleten og bland grundigt med vortexer.  
Ethanol udtrækker restxylene fra prøven og skal bortskaffes korrekt.

7. Centrifuger ved fuld hastighed i ca. 2 minutter ved stuetemperatur.

Fjern supernatanten ved pipettering. Pelletering må ikke fjernes.

Fjern forsigtigt eventuelt restethanol vha. en fin pipettespids. Åbn røret, og inkubér ved 15-40 °C, indtil alt restethanolet er fordampet. Fjernelse af restethanol er af afgørende betydning for en vellykket ekstraktion.

**Bemærk:** Lavere inkubationstemperatur nedsætter fordampningstiden, hvorimod højere temperatur kan gøre pelleten for tør og gøre det vanskeligt at suspendere den.

8. Resuspendér pellet'en i 180 µl Buffer ATL. Tilsæt 20 µl proteinase K og bland med vortexer.

**Bemærk:** Pelleten skal være godt resuspendert i ATL-buffere for at sikre maksimal genvinding af udbytte.

9. Inkubér ved 56 °C ± 3 °C i ca. 1 time (eller indtil prøven er blevet fuldstændig lyseret).

10. Inkubér ved 90°C ± 5 °C i 1 time ± 5 min.

Inkuberingen ved 90 °C i Buffer ATL reverserer delvist formaldehydmodifikationen af nukleinsyrer. Kortere inkubationstider eller lavere inkubationstemperaturer kan påvirke DNA-kvaliteten og -kvantiteten. Hvis der kun anvendes en varmeblok, skal prøven forblive ved stuetemperatur efter 56 °C inkubering, indtil varmeblokken har nået 90 °C.

11. Centrifuger røret kortvarigt for at fjerne dråber fra lågets inderside.

12. Tilsæt 200 µl Buffer AL til prøven, og bland grundigt med vortexer. Tilsæt derefter 200 µl ethanol (96-100 %), og bland igen grundigt med vortexer.

Det er vigtigt, at prøve, Buffer AL og ethanol blandes omgående og grundigt ved blanding i vortexer eller ved pipettering for at give en homogen opløsning. Buffer AL og ethanol kan forblendes og tilsættes sammen i et trin for at spare tid ved behandling af flere prøver. Der kan dannes et hvidt bundfald ved tilsætning af Buffer AL og ethanol. Dette bundfald påvirker ikke QIAamp-proceduren. Brug altid en frisk blanding, og bortskaf den omgående efter brug.

13. Centrifuger røret kortvarigt for at fjerne dråber fra lågets inderside.

---

14. Overfør forsigtigt hele lysatet til QIAamp MinElute-kolonnen (i et 2 ml vaskerør) uden at gøre kanten våd. Luk låget, og centrifuger ved ca. 6000 x g i  $\geq 1$  min. Placér QIAamp MinElute-kolonnen i et rent 2 ml vaskerør (vedlagt), og bortskaf vaskerøret med gennembløbet.

Hvis lysatet ikke er kommet helt gennem membranen efter centrifugering, skal der centrifugeres igen ved en højere hastighed, indtil QIAamp MinElute-kolonnen er tom.

15. Åbn forsigtig QIAamp MinElute-kolonnen, og tilsæt 500  $\mu$ l rekonstitueret Buffer AW1 uden at gøre kanten våd. Luk låget, og centrifuger ved ca. 6000 x g i  $\geq 1$  min. Anbring QIAamp MinElute-kolonnen i et rent 2 ml vaskerør, og bortskaf vaskerøret med gennembløbet.

16. Åbn forsigtig QIAamp MinElute-kolonnen, og tilsæt 500  $\mu$ l rekonstitueret Buffer AW2 uden at gøre kanten våd. Luk låget, og centrifuger ved ca. 6000 x g i  $\geq 1$  min. Anbring QIAamp MinElute-kolonnen i et rent 2 ml vaskerør, og bortskaf vaskerøret med gennembløbet.

Kontakt mellem QIAamp MinElute-kolonnen og gennembløbet skal undgås. Sørg for at afbalancere centrifugerotoren. Nogle centrifugerotorer kan vibrere ved deceleration, hvilket resulterer i, at gennembløbet, der indeholder ethanol, kommer i kontakt med QIAamp MinElute-kolonnen. Udvis forsigtighed ved udtagning af QIAamp MinElute-kolonnen, og vaskerøret fra rotoren, så gennembløbet ikke kommer i kontakt med QIAamp MinElute-kolonnen.

17. Centrifuger ved fuld hastighed (ca. 20.000 x g) i ca. 3 min. for at tørre membranen. Ethanolrester i eluatet kan påvirke visse efterfølgende anvendelser.

---

18. Anbring QIAamp MinElute-kolonnen i et rent 1,5 ml elueringsrør (vedlagt), og bortskaf vaskerøret med gennembløbet. Åbn forsigtigt låget på QIAamp MinElute-kolonnen, og tilsæt 20-200 µl Buffer ATE til midten af membranen.

**VIGTIGT:** Ved anvendelse af små elueringsmængder (< 50 µl) dispenseres Buffer ATE på midten af membranen for at sikre fuld eluering af bundet DNA. QIAamp MinElute-kolonner giver fleksibilitet i valget af elueringsmængde. Vælg en mængde i overensstemmelse med kravene til den efterfølgende anvendelse. Eluatmængden vil være ca. 5 µl mindre end den mængde elueringsopløsning, der blev anvendt på kolonnen.

19. Luk låget, og inkubér ved stuetemperatur (15-25 °C) i mindst 1 min. Centrifuger ved fuld hastighed (ca. 20.000 x g) i ≥ 1 min.

Inkubering af QIAamp MinElute-kolonnen med Buffer ATE i ca. 5 min. ved stuetemperatur før centrifugering kan øge DNA-udbyttet.

---

# Kvalitetskontrol

I henhold til QIAGENs ISO-certificerede kvalitetsstyringssystem testes hvert lot QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kit mod forudbestemte specifikationer for at sikre konstant produktkvalitet.

## Begrænsninger

Kitpræstationen er bestemt med formalinfikseret, paraffinindstøbt (FFPE-væv) til isolering af genomisk DNA.

Det er brugerens ansvar at kontrollere systemets egnethed til eventuelle procedurer, der udføres i laboratoriet og ikke er omfattet af QIAGENs ydelsesundersøgelser, som er beskrevet i håndbogen.

For at minimere risikoen for en negativ indvirkning på diagnostiske resultater skal der anvendes hensigtsmæssige kontroller for efterfølgende anvendelser. For yderligere validering anbefales retningslinjerne i International Conference on Harmonisation for tekniske krav (ICH) i ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology anbefales.

De fremkomne diagnostiske resultater skal fortolkes i forbindelse med andre kliniske fund eller laboratoriefund.








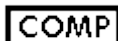


Ved hjælp af QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kittet kan RNA renses sammen med DNA'en, hvis den er til stede i prøven.

# Ydelsesegenskaber

Se [www.qiagen.com/p/QIAamp-DSP-DNA-FFPE-Tissue-CE](http://www.qiagen.com/p/QIAamp-DSP-DNA-FFPE-Tissue-CE) for præstationskarakteristika for QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kittet.

## Symboler

Følgende symboler kan evt. findes på emballagen og etiketten:

Symbol	Symboldefinition
 <N>	Indeholder tilstrækkelige reagenser til <N> reaktioner
	Anvendes inden
	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Ved levering
	Katalognummer
	Lotnummer
	Materialenummer
	Komponenter
	Indeholder
	Antal



## Symbol

## Symboldefinition



Skriv den aktuelle dato ned efter tilsætning af ethanol til flasken

EtOH

Ethanol

ADD

Tilsætter

GuHCl

Guanidinhydrochlorid

MALEIC ACID

Maleinsyre

GTIN

Globalt handelsvarenummer



Temperaturbegrænsning



Producent



Se de informationer, der er angivet i håndbogen



Forsigtig

## Kontaktoplysninger

For teknisk bistand og yderligere information henvises til vores tekniske supportcenter på [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support), ring på 00800-22-44-6000, eller kontakt en af QIAGENS tekniske serviceafdelinger eller lokale forhandlere (se bagsiden, eller besøg [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

# Bestillingsinformation

Produkt	Indhold	Kat.-nr.
<b>QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kit – til oprensning af genomisk DNA fra paraffinindstøbt væv</b>		
QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (50)	Til 50 DNA-fremstillinger: 50 QIAamp MinElute®-kolonner, proteinase K, buffere, vaskerør (2 ml), elueringsrør (1,5 ml), lysisrør (2 ml)	60404

For opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle QIAGEN kit-håndbog eller brugermanual. QIAGEN kit-håndbøger og brugervejledninger kan findes på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan rekvireres fra QIAGENS tekniske serviceafdeling eller den lokale leverandør.

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

**Begrænset licensaftale for håndbog til QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kit**

Brug af dette produkt betyder, at enhver køber eller bruger af produktet accepterer følgende vilkår:

1. Produktet må kun anvendes i overensstemmelse med protokoller leveret med produktet og denne håndbog og kun med de komponenter, der er i panelet. QIAGEN giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkludere komponenterne i dette panel med komponenter, der ikke er inkluderet i dette panel, undtagen som beskrevet i de protokoller, der følger med produktet, denne håndbog og andre protokoller, der er tilgængelige på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Nogen af disse andre protokoller er stillet til rådighed af QIAGEN-brugere for QIAGEN-brugere. Disse protokoller er ikke grundigt testet eller optimeret af QIAGEN. QIAGEN hverken garanterer for dem eller for, at de ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
2. Ud over de udtrykkeligt givne licenser giver QIAGEN ingen garanti for, at dette panel, og/eller brugen af det, ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Dette panel og dets komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, genoprettes eller videresælges.
4. QIAGEN afviser specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køberen og brugeren af panelet indvilliger i ikke at tage, eller lade andre tage, skridt, der kunne føre til, eller fremme, handlinger der forbydes ovenfor. QIAGEN kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale ved enhver domstol og vil inddrive alle undersøgelses- og sagsomkostninger, herunder advokatsalærer, i ethvert søgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle deres intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med panelet og/eller komponenterne deri.

For opdaterede licensbetingelser henvises der til [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Feb-17 HB-0414-004 © 2017 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

---

Bestilling [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Teknisk support [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Websted [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)