



## AmoyDx<sup>®</sup> FFPE DNA Kit (Spin-Säule)

Gebrauchsanweisung

**REF** 8.02.0001 36 Tests/Kit



**Amoy Diagnostics Co., Ltd.**  
Nr. 39, Dingshan Road, Haicang District,  
361027 Xiamen, Volksrepublik China  
Tel: +86 592 6806835  
Telefax: +86 592 6806839  
E-Mail: sales@amoydx.com  
Webseite: www.amoydx.com



**QbD RepS BV**  
Groenenborgerlaan 16  
2610 Wilrijk  
Belgien



**Qarad Suisse S.A.**  
World Trade Center  
Avenue Gratta-Paille 2  
1018 Lausanne  
Schweiz



**Umedwings Netherlands B.V.**  
Treubstraat 1, 2288EG, Rijswijk,  
Niederlande  
SRN: NL-IM-000000454  
Diese Angaben zum Importeur gelten nur für  
den EU-Markt

Version: V02

## Zweckbestimmung

Das AmoyDx® FFPE DNA Kit wurde speziell für die Isolierung und Aufreinigung von DNA aus formalinfixierten, paraffineingebetteten (FFPE) Gewebeschnitten entwickelt. Die aufgereinigte DNA eignet sich für Downstream-Anwendungen wie Real-Time-PCR und Sequenzierung.

## Vorgesehener Anwender

Das AmoyDx® FFPE DNA Kit ist ausschließlich für die Verwendung durch ausgebildetes Laborpersonal bestimmt.

## Prinzip

Die Gewebeschnitte der FFPE-Proben werden zunächst mit der Xylol/ Ethanol-Methode entparaffiniert und dann in Puffer DTL und Proteinase K-Lösung inkubiert, um die DNA aus den Schnitten zu lösen. Eine kurze Inkubation in Puffer DES bei höherer Temperatur kehrt die Formalin-Vernetzung der freigesetzten Nukleinsäuren teilweise um und verbessert so die DNA-Ausbeute und -Qualität, sowie die Performance der DNA in nachfolgenden Assays. Das Lysat wird mit Puffer DTB und Ethanol gemischt, um geeignete Bindungsbedingungen für die DNA zu schaffen. Die Mischung wird dann auf eine DNA-Spin-Säule aufgetragen, wo die DNA an die Membran bindet und Verunreinigungen mit Waschpuffer entfernt werden. Die DNA wird in Puffer DTE eluiert.

## Inhalt des Kits

Dieses Kit enthält genügend Reagenzien, um 36 Tests durchzuführen (Tabelle 1).

Tabelle 1: Inhalt des Kits

Röhrchen-Nr.	Komponente	Kennzeichnung	Menge
—	DNA-Spin-Säulen	DNA Spin Columns DNA 吸附柱	36 Stck. ×1
—	Sammelröhrchen (2 mL)	Collection Tubes (2 mL) 2 mL 收集管	72 Stck. ×1
—	Zentrifugenröhrchen (1,5 mL)	Centrifugal Tubes (1.5 mL) 1.5 mL 离心管	72 Stck. ×1
1	Puffer DTL	Buffer DTL 裂解液 DTL	10 mL ×1
2	Proteinase K-Lösung	Proteinase K Solution 蛋白酶 K 溶液	900 µL ×1
3	Puffer DES	Buffer DES 修复液 DES	800 µL ×1
4	Puffer DTB	Buffer DTB 结合液 DTB	10 mL ×1
5	Puffer DW1	Buffer DW1 洗涤液 DW1	13 mL ×1
6	Puffer DW2	Buffer DW2 洗涤液 DW2	6 mL ×1
7	Puffer DTE	Buffer DTE 洗脱液 DTE	8 mL ×1

### Hinweis:

- 1) **Puffer DTB** und **Puffer DW1** enthalten Guanidinsalz, das nicht in Kontakt mit bleichmittelhaltigen Desinfektionsmitteln oder säurehaltigen Lösungen gebracht werden darf.
- 2) Vor der ersten Verwendung geben Sie 17 mL Ethanol (96~100 %) zu **Puffer DW1** und mischen Sie gründlich; geben Sie 24 mL Ethanol (96~100 %) zu **Puffer DW2** und mischen Sie ebenfalls gründlich. Kreuzen Sie das Kontrollkästchen auf dem Flaschenetikett an.

## Lagerung und Stabilität

Die Haltbarkeit des Kits beträgt 12 Monate. Das Kit sollte trocken bei Raumtemperatur (10~30 °C) transportiert und gelagert werden.

## Zusätzlich benötigte Reagenzien und Ausrüstung

- 1) Ethanol (96~100 %).
- 2) Xylol.

- 3) Mikrozentrifuge.
- 4) Vortexer.
- 5) Handzentrifuge.
- 6) Wasserbad oder beheizter Orbital-Inkubator (37~90 °C einstellbar).
- 7) Sterile, Nuklease-freie Pipettenspitzen.
- 8) Empfohlen: Mikrotom, das für das Schneiden von paraffineingebettetem Gewebe geeignet ist und Schnitte von 5~10 µm erstellen kann.

## Vorsichtsmaßnahmen und Anforderungen an die Handhabung

### Vorsichtsmaßnahmen

- Bitte lesen Sie vor der ersten Verwendung die Anleitung sorgfältig durch und machen Sie sich mit allen Komponenten des Kits vertraut. Befolgen Sie während des Gebrauchs strikt die Anweisungen.
- Verwenden Sie das Kit oder einzelne Komponenten des Kits NICHT nach Ablauf des Verfallsdatums.
- Verwenden Sie für die Tests KEINE Reagenzien aus anderen Chargen.
- Verwenden Sie KEINE Reagenzien anderer Testkits.

### Sicherheitsinformationen

- **Puffer DTB** und **Puffer DWI** enthalten Guanidinsalz, das in Verbindung mit Bleichmittel hochreaktive Verbindungen bilden kann. **Geben Sie keine Bleichmittel oder säurehaltigen Lösungen direkt in den Probenaufbereitungsabfall.** Wenn die Flüssigkeit, die diesen Puffer enthält, verschüttet wird, reinigen Sie die betroffene Stelle mit einem geeigneten Laborreinigungsmittel und Wasser.



#### Signalwort

#### Gefahrenhinweise:

H302+H332:

H315:

H319:

#### Sicherheitshinweise

P261:

P264:

P301+P312:

P302+P352:

P304+P340+P312:

P305+P351+P388:

#### Warnung

Gesundheitsschädlich beim Verschlucken oder beim Einatmen.

Verursacht Hautreizungen.

Verursacht schwere Augenreizungen.

Vermeiden Sie das Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol.

Waschen Sie die Haut nach dem Umgang gründlich.

BEIM VERSCHLUCKEN: Rufen Sie ein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder einen Arzt an, wenn Sie sich unwohl fühlen.

BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Waschen Sie sich mit viel Wasser und Seife.

BEI EINATMEN: Bringen Sie die Person an die frische Luft und sorgen Sie für eine ungehinderte Atmung.

BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

- Behandeln Sie alle Proben und Komponenten des Kits als potenziell infektiöses Material unter Anwendung sicherer Laborverfahren.
- Verwendung nur durch geschultes Fachpersonal. Bitte tragen Sie beim Umgang mit den Reagenzien einen geeigneten Laborkittel und Einweghandschuhe.
- Wenn ein verschüttetes Produkt potenziell infektiöse Reagenzien enthält, reinigen Sie den betroffenen Bereich zuerst mit Laborreinigungsmittel und Wasser und anschließend mit 1 % (v/v) Natriumhypochlorid oder einem geeigneten Labordesinfektionsmittel.
- Vermeiden Sie den Kontakt von Haut, Augen und Schleimhäuten mit den Chemikalien. Im Falle eines Kontakts spülen Sie sofort mit Wasser.
- NICHT mit dem Mund pipettieren.

### Dekontamination und Entsorgung

- Beim Umgang mit Proben und Reagenzien sollten Sie Handschuhe tragen und diese häufig wechseln, um eine Kontamination zu vermeiden.
- Verwenden Sie beim Umgang mit Proben und Reagenzien separate Pipetten und Filterspitzen, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
- Alle Einwegmaterialien sind für den einmaligen Gebrauch bestimmt. BITTE NICHT wiederverwenden.
- Die nicht verwendeten Reagenzien, das gebrauchte Kit und der Abfall müssen ordnungsgemäß entsorgt werden.

### Reinigung

- Reinigen Sie nach dem Experiment den Arbeitsbereich und besprühen Sie die Pipetten und Geräte mit 75 %igem Ethanol oder 10 % Natriumhypochlorid.

### Probenentnahme, Transport und Lagerung

Standardverfahren zur Formalinfixierung und Paraffineinbettung führen immer zu einer erheblichen Fragmentierung der Nukleinsäuren. Um das Ausmaß der DNA-Fragmentierung zu begrenzen, beachten Sie folgende Empfehlungen:

- 1) Fixieren Sie die Gewebeproben so schnell wie möglich nach der chirurgischen Entfernung in 4~10 %iger neutraler Formalinlösung.
- 2) Verwenden Sie eine Fixierungszeit von 14~24 Stunden (eine längere Fixierungszeit führt zu einer stärkeren Fragmentierung der DNA,

was zu schlechteren Ergebnissen in nachfolgenden Assays führt).

- 3) Entwässern Sie die Proben vor dem Einbetten gründlich (Formalinreste können den Verdau durch Proteinase K hemmen).
- 4) Das Ausgangsmaterial für die DNA-Aufreinigung sollten frisch geschnittene Schnitte von FFPE-Gewebe sein, jeder Schnitt mit einer Dicke von weniger als 10 µm. (Dickere Schnitte können zu einer geringeren DNA-Ausbeute führen, auch nach längerer Inkubation mit Proteinase K).
- 5) Die Fläche des FFPE-Gewebes sollte 0,5~1 cm<sup>2</sup> betragen. Wenn die Oberfläche des FFPE-Gewebes weniger als 0,5 cm<sup>2</sup> beträgt, verwenden Sie bitte mehr Schnitte.
- 6) Die Lagerzeit von FFPE-Proben sollte weniger als 3 Jahre betragen.

### Richtlinien für das Schneiden von Paraffinblöcken

Um dieses Kit zu verwenden, benötigen Sie 5~10 µm dicke Gewebeschnitte aus Paraffinblöcken. Sie können jede beliebige Methode zum Schneiden der Paraffinblöcke verwenden. Im Folgenden finden Sie allgemeine Richtlinien für das Schneiden von Paraffinblöcken:

- 1) Vermeiden Sie eine Nuklease-Kontamination, indem Sie eine saubere, scharfe Mikrotomklinge und Pinzette verwenden.
- 2) Wenn mehrere Proben bearbeitet werden, reinigen Sie die Mikrotomklinge und die Pinzette mit DNase-inaktivierenden Mitteln, um eine Kreuzkontamination von Nukleinsäuren und DNasen zu vermeiden. Nach der Reinigung wird eine UV-Bestrahlung von 10 Minuten empfohlen.
- 3) Tragen Sie immer Latex- oder Vinylhandschuhe.
- 4) Schneiden Sie 5~10 µm dicke Schnitte aus beschnittenen Paraffinblöcken mit einer Gewebeoberfläche von etwa 0,5~1 cm<sup>2</sup>.

### Assay-Verfahren

#### 1. Entparaffinierung

- 1.1 Schneiden Sie überschüssiges Paraffin mit einem Skalpell von dem Probenblock ab.
- 1.2 Schneiden Sie Schnitte mit einer Dicke von 5~10 µm und einer Oberfläche zwischen 0,5~1 cm<sup>2</sup>.
- 1.3 Geben Sie sofort 2~5 Schnitte in ein 1,5 mL Zentrifugenröhrchen.
- 1.4 Fügen Sie 1 mL Xylol hinzu, schließen Sie den Deckel und vortexen Sie kräftig für 10 Sekunden.
- 1.5 Zentrifugieren Sie bei 13.000 ×g für 2 Minuten bei Raumtemperatur.
- 1.6 Entfernen Sie den Überstand durch Pipettieren (entfernen Sie nichts vom Pellet).
- 1.7 Geben Sie 1 mL Ethanol (96~100 %) zum Pellet und vortexen Sie die Probe für 10 Sekunden.
- 1.8 Zentrifugieren Sie bei 13.000 ×g für 2 Minuten bei Raumtemperatur.
- 1.9 Entfernen Sie den Überstand durch Pipettieren (entfernen Sie nichts vom Pellet).
- 1.10 Öffnen Sie das Röhrchen und inkubieren Sie es für 10 Minuten bei Raumtemperatur oder für 5 Minuten bei 37 °C. Stellen Sie sicher, dass das restliche Ethanol verdampft ist, bevor Sie fortfahren.

#### 2. DNA-Extraktion

##### Hinweis:

- Vor der ersten Verwendung des Kits geben Sie bitte 17 mL Ethanol (96~100%) zu **Puffer DW1** und 24 mL Ethanol (96~100 %) zu **Puffer DW2**, und kreuzen Sie das Kontrollkästchen auf dem Flaschenetikett an.
  - Überprüfen Sie vor der DNA-Extraktion, dass keine Reagenzien auslaufen. Schütteln Sie die Reagenzien vorsichtig, um die Lösungen zu mischen. Wenn die Reagenzien Präzipitate enthalten, lösen Sie diese durch Erhitzen auf 50 °C auf.
- 2.1 Fügen Sie 180 µL **Buffer DTL** und 20 µL **Proteinase K-Lösung** hinzu und mischen Sie die Probe durch Vortexen.
  - 2.2 Inkubieren Sie die Probe für 1 Stunde bei 56 °C, um das Gewebe zu lysieren. Wenn das Gewebe nicht vollständig lysiert wurde oder eine höhere DNA-Konzentration benötigt wird, inkubieren Sie die Probe für eine längere Zeit oder über Nacht.
  - 2.3 Geben Sie 10 µL **Puffer DES** hinzu. Überführen Sie das Zentrifugenröhrchen in einen Heizblock und inkubieren Sie es unter Schütteln bei 90 °C für 1 Stunde.
  - 2.4 Zentrifugieren Sie kurz für 5~10 Sekunden. Wenn Sie RNA-freie genomische DNA benötigen, lassen Sie die Probe auf Raumtemperatur abkühlen, fügen Sie 2 µL RNase A (100 mg/mL) hinzu und inkubieren Sie die Probe für 5 Minuten bei Raumtemperatur.
  - 2.5 Geben Sie 200 µL **Puffer DTB** und 200 µL Ethanol (96~100 %) hinzu und mischen Sie mit dem Vortexer.
  - 2.6 Zentrifugieren Sie kurz für 5~10 Sekunden.
  - 2.7 Übertragen Sie das gesamte Lysat auf die DNA-Spin-Säule (in einem 2 mL Sammelröhrchen), ohne den Rand zu benetzen, schließen Sie den Deckel und zentrifugieren Sie bei 10.000 ×g für 1 Minute.

- 2.8 Verwerfen Sie den Durchfluss im Sammelröhrchen.
  - 2.9 Geben Sie 600 µL **Puffer DW1** auf die DNA-Spin-Säule und zentrifugieren Sie bei 10.000 ×g für 1 Minute.
  - 2.10 Verwerfen Sie den Durchfluss im Sammelröhrchen.
  - 2.11 Geben Sie 600 µL **Puffer DW2** auf die DNA-Spin-Säule und zentrifugieren Sie bei 10.000 ×g für 1 Minute.
  - 2.12 Verwerfen Sie das Sammelröhrchen mit dem Durchfluss.
  - 2.13 Geben Sie die DNA-Spin-Säule in ein sauberes 2 mL Sammelröhrchen und zentrifugieren Sie bei 13.000 ×g für 3 Minuten.
  - 2.14 Verwerfen Sie das Sammelröhrchen mit dem Durchfluss.
  - 2.15 Geben Sie die DNA-Spin-Säule in ein sauberes 1,5 mL Zentrifugenröhrchen.
  - 2.16 Geben Sie 30~100 µL **Puffer DTE** in die Mitte der Membran. Berühren Sie die Membran nicht.
  - 2.17 Inkubieren Sie die Probe bei Raumtemperatur für 1~5 Minuten.
  - 2.18 Zentrifugieren Sie bei 13.000 ×g für 1 Minute.
  - 2.19 Die eluierte DNA ist sofort einsatzbereit oder kann bei -20 °C gelagert werden.
- Hinweis: Puffer DTE sollte nur für die Elution und Lagerung und NICHT für die weitere Verdünnung der Probe verwendet werden.*

### Leistungsmerkmale

Die Extraktionseffizienz des Kits wurde durch Tests an sechs klinischen FFPE-Gewebeproben nachgewiesen.

- Extrahierte DNA: Mittlere Absorption bei 260 nm (A260) ≥ 0,2, und mittleres Verhältnis A260/A280 ≥ 1,6.

### Einschränkungen

- 1) Die Qualität der extrahierten DNA unterliegt dem Einfluss von Faktoren wie Ausgangsmaterial, Entnahmeverfahren, Formalinfixierung, Paraffineinbettung und Lagerbedingungen.
- 2) Die Qualität der Probe hat einen großen Einfluss auf die Qualität und Menge der aufgereinigten DNA.
- 3) Aufgrund der Fixierungs- und Einbettungsbedingungen sind die Nukleinsäuren in FFPE-Proben in der Regel stark fragmentiert und durch Formaldehyd chemisch verändert. Die aus FFPE-Gewebe extrahierte DNA sollte nicht für Downstream-Anwendungen verwendet werden, die DNA in voller Länge benötigen.


















### Allgemeine Hinweise

Sollte es bei der Verwendung dieses Kits oder als Folge davon zu einem schwerwiegenden Zwischenfall kommen, melden Sie dies bitte dem Hersteller und Ihrer nationalen Behörde.

### Referenzen

Chevillard S. A method for sequential extraction of RNA and DNA from the same sample, specially designed for a limited supply of biological material. *Biotechniques*. 1993 Jul;15(1):22-4

### Symbole

	Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft/Europäischen Union		In-vitro-Diagnostikum
	Hersteller		Katalognummer
	Chargennummer		Haltbarkeitsdatum
	Ausreichend für <n> Tests		Temperaturgrenze
	Gebrauchsanweisung beachten		Trocken halten
	Hier nach oben		Zerbrechlich, mit Vorsicht zu behandeln
	Kitkomponenten		Kreuzen Sie das Kästchen an, nachdem Sie Ethanol in das Fläschchen gegeben haben
	Hinzufügen von		Ethanol
	Importeur		

## Änderungshistorie

Änderung	Datum des Inkrafttretens	Änderungshistorie
B1.0	26.05.2022	Erste Ausgabe
V01	04.11.2022	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Symbol und Informationen des Importeurs hinzugefügt;</li> <li>2. Änderungshistorie hinzugefügt;</li> <li>3. Verschieben des "Erstellungsdatums" von der ersten auf die letzte Seite;</li> <li>4. Umsetzung der neuen Kodierungsregeln für Gefahren- und Sicherheitshinweise.</li> </ol>
V02	10.03.2025	Aktualisierung des europäischen und schweizerischen Bevollmächtigten