



Navodila za pripravo vzorcev tkiva za izolacijo DNA/RNA v epico iz netumorskega tkiva

Testiranje lahko izvedemo iz netumorskega tkiva vklopljenega v parafin (FFPE), zmrznjenega ali svežega netumorskega tkiva.

PRIPRAVA VZORCA FFPE:

Pri sprejemu in tehnični obdelavi tkiva upoštevajte standarde kakovosti v patologiji (tkivo mora biti fiksirano čim prej, optimalno fiksirano v 10% nevtralnem formalinu - volumen fiksativa mora biti 5-10x večji od volumna tkiva, tehnična obdelava in vklop tkiva morajo biti optimizirani). Za testiranje patolog izbere in določi primeren vzorec, v katerem ni tumorskih celic. Na kakovost izolirane DNA/RNA vplivajo čas fiksacije, vrsta in količina fiksativa, izpostavljenost preparata zraku ali vročini.

Pri pripravi rezin za izolacijo DNA/RNA:

- uporabite vsakič novo rezilo mikrotoma med vzorci
- očistite vodno kopel med vzorci
- med rezanjem si nadenite čiste rokavice
- ne postavljajte odrezanih rezin na vroča mesta

Navodila:

- Patolog na osnovi že izdelanih HE preparatov izbere reprezentativni blok netumorskega tkiva, iz katerega boste pripravili material za izolacijo DNA/RNA.
- Narez pripravite iz količkov ali področja tkiva, ki vsebujejo čim več celic (površina vsaj 1cm²) in **čim manjši delež maščobe in/ali nekroze**.
- Zavrzite prve 2-3 rezine (zaradi izpostavljenosti zraku površine bloka/količka).
- Pripravite **1 epico z 10 rezinami debeline 5-10µm**.
- Po narezu epico z rezinami takoj postavite v hladilnik (T = 4-10°C).

Opombe:

- V primeru, da je površina tkiva enaka ali manjša od 2,5 mm², prosimo pripravite 12 oziroma največje možno število neobarvanih rezin v epico.
- Patolog zagotavlja, na osnovi reprezentativnega HE preparata izbranega količka, da v neobarvanih rezinah namenjenih izolaciji DNA/RNA ni tumorskega tkiva.
- Priprava tkivnih rezin na mikroskopskih stekelcih ni ustrezna za izolacijo RNA zaradi izpostavljenosti zraku, višjim temperaturam sušenja ter encimom, ki razgradijo RNA (RNAzam).

PRIPRAVA SVEŽEGA ALI ZMRZNJENEGA VZORCA

- Pripravite 25-50 mg svežega ali zmrznjenega netumorskega tkiva v fiziološki raztopini v sterilni epruveti ali epici.
- Patolog zagotavlja, da v izbranem tkivu, namenjenem izolaciji DNA/RNA, ni tumorskega tkiva.

Opombe:

- Če svež vzorec ne morete dostaviti v roku 1 ure po odvzemu, pripravite zmrznjen vzorec ali FFPE.

TRANSPORT VZORCEV:

- Tkivo vklopljeno v parafin – FFPE: na ledu, če je transport vzorca daljši od 30 minut.
- zmrznjeno tkivo: pri T = -20°C.
- sveže tkivo: na ledu.

Vzorec in izpolnjen »Zahtevek za pripravo vzorcev za molekularno biološko preiskavo iz biopsijskega materiala« pošljete na naslov:

Onkološki inštitut Ljubljana
Oddelek za molekularno diagnostiko
Zaloška 2
SI-1000 Ljubljana