

FFPE-näytteen lähettäminen KiTu1-tutkimusta varten

Lähetetyistä näytteistä eristetään Geenidiagnostiikkalaboratoriossa genominen DNA, jota käytetään analyseissä. Lähtömateriaalin puhtaus ja laatu vaikuttavat sekvensoinnin kattavuuteen sekä mutaatioiden havaitsemisvarmuuteen. Näytteet leikataan enintään viisi vuotta vanhasta parafiiniblokista. Mikäli halutaan toimittaa tätä vanhempia näytteitä, asiasta on sovittava erikseen Geenidiagnostiikkalaboratorion kanssa.

Näytteen mukana toimitetaan täytetty tutkimuspyyntölomake ja HE-lasi. Leikkeiden ottoa varten lähettävän laboratorion patologi valitsee kudosblokista edustavan kohdan, joka sisältää vähintään 30 % syöpäsoluja. HE-lasille merkitään alue, josta leikkeet on otettu. Arvio syöpäsolujen määrästä (%) kirjataan tutkimuspyyntölomakkeelle. Näytteestä ei voida antaa luotettavaa negatiivista tulosta, mikäli määrää ei ole ilmoitettu tai syöpäsoluja on alle 30 %.

Mikrotomin terä sekä käytettävät apuvälineet kuten pensselit tulee puhdistaa DNA:ta hajottavalla liuoksella ja vähintään 70 % alkoholilla ennen leikkaamista sekä jokaisen blokin jälkeen. Varmista, ettei DNA:ta hajottavaa liuosta pääse leikattavaan näytteeseen! Myös leikkaamisessa käytettävän veden tulee olla puhdasta.

Leikkeiden paksuus tulee olla 10 µm ja tarvittava lukumäärä riippuu kudoksen tilavuudesta, joka määritetään blokissa olevan kudoksen pinta-alan ja leikkeen paksuuden perusteella.

Leikkeitä otetaan kahteen erilliseen 1,5–2,0 ml mikrosentrifugiputkeen, niin että kudoksen kokonaistilavuus on vähintään 1,0 mm³ ja enintään 4 mm³ per putki. Kuitenkin mielellään enintään 6 leikettä per putki. Pienistä näytteistä, joissa kudoksen määrä on vähäinen (esim. biopsianäytteet), voidaan lähettää vain yksi putki.

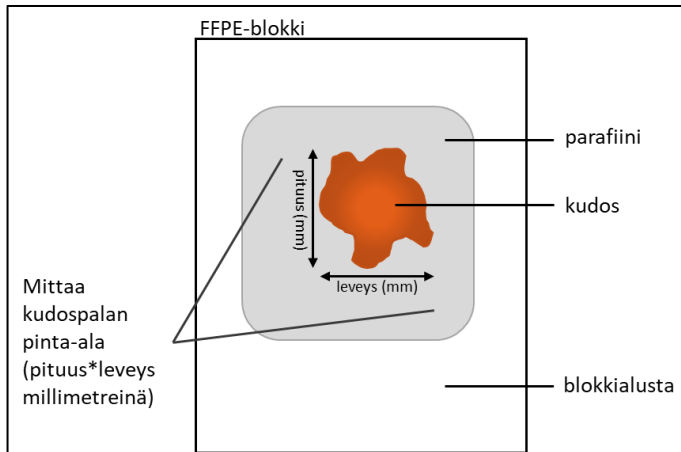
Mikäli kudoksen kokonaistilavuus jää pienemmäksi kuin 1,0 mm³, emme voi taata luotettavaa sekvensointitulosta. Kudoksen pinta-ala tulee merkitä tutkimuspyyntölomakkeelle.

Kudoksen pinta-ala arvioidaan Kuvan 1 osoittamalla tavalla kertomalla kudoksen pituus ja leveys keskenään. Kudoksen kokonaistilavuus lasketaan kertomalla kudoksen pinta-ala, leikkeen paksuus ja leikkeiden määrä keskenään. Huomiothan, että 1 µm=0,001 mm.

Taulukossa 1 on esitetty valmiita esimerkkilavuuksia eri kokoisille kudospaloille ja leikemäärille ja alla on esimerkki tilavuuden laskemiseksi:

Kudoksen pinta-ala: pituus 5,0 mm × leveys 10 mm = 50 mm²

Kudoksen (jonka pinta-ala on laskettu edellä) tilavuus kahdelle leikkeelle: pinta-ala 50 mm² × leikkeen paksuus 10 µm × 2 leikettä = 50 × 0,01 × 2 = 1,0 mm³



Kuva 1. FFPE-kudosleikkeen pinta-alan määrittäminen. Kudoksesta mitataan pituus ja leveys millimetreinä. Palan pinta-ala lasketaan pituus × leveys (mm²).

Taulukko 1. Kudosten leikkien tilavuuden määritysesimerkkejä (leikepaksuus 10 µm).

Pinta-ala	Leikkeiden määrä	Tilavuus
25 mm ²	4-leikettä	1,0 mm ³
50 mm ²	2-leikettä	1,0 mm ³
	4 leikettä	2,0 mm ³
	8 leikettä	4,0 mm ³
100 mm ²	1-leike	1,0 mm ³
	2 leikettä	2,0 mm ³
	4 leikettä	4,0 mm ³
200 mm ²	1 leike	2,0 mm ³
	2 leikettä	4,0 mm ³
400 mm ²	1 leike	4,0 mm ³

Olettehan yhteydessä Geenidiagnostiikkalaboratorioon ennen pienten näytteiden lähettämistä!

Suuri parafiinin määrä näytteessä vaikeuttaa DNA:n eristystä. Jos kudospala blokkissa on pieni, tulisi leikkeitä trimmata (poistaa ylimääräistä parafiinia leikkeen reunoilta), jotta parafiinin osuus näytteessä ei nousisi liian korkeaksi.

Näyteputkiin kirjataan näytetunniste, potilaan nimi, henkilötunnus ja leikkeen leikkauspäivämäärä.

Näytteet voidaan säilyttää ja lähettää huoneenlämmössä, näyteputken korkki tiiviisti suljettuna. Lähetys tulisi tehdä mahdollisimman pian leikkeiden teon jälkeen. Lähetys on tehtävä alkuviikon (ma-ke) aikana, jotta ne eivät jää kuljetukseen viikonlopuksi.

Näytteet lähetetään keltamustaraidallisessa näytelähetyslaatikossa, osoitteeseen:

Itä-Suomen yliopisto
Kliinisen lääketieteen yksikkö / Itä-Suomen Genomikeskus
Geenidiagnostiikkalaboratorio
Yliopistonrinne 3 (Mediteknia)
PL 1627 70211 Kuopio