

# DNA en RNA extractie uit FFPE weefsel

Floor Van de Sande, begeleider: Sara Vander Borgh – Centrum Menselijke Erfelijkheid UZ Leuven

## Inleiding

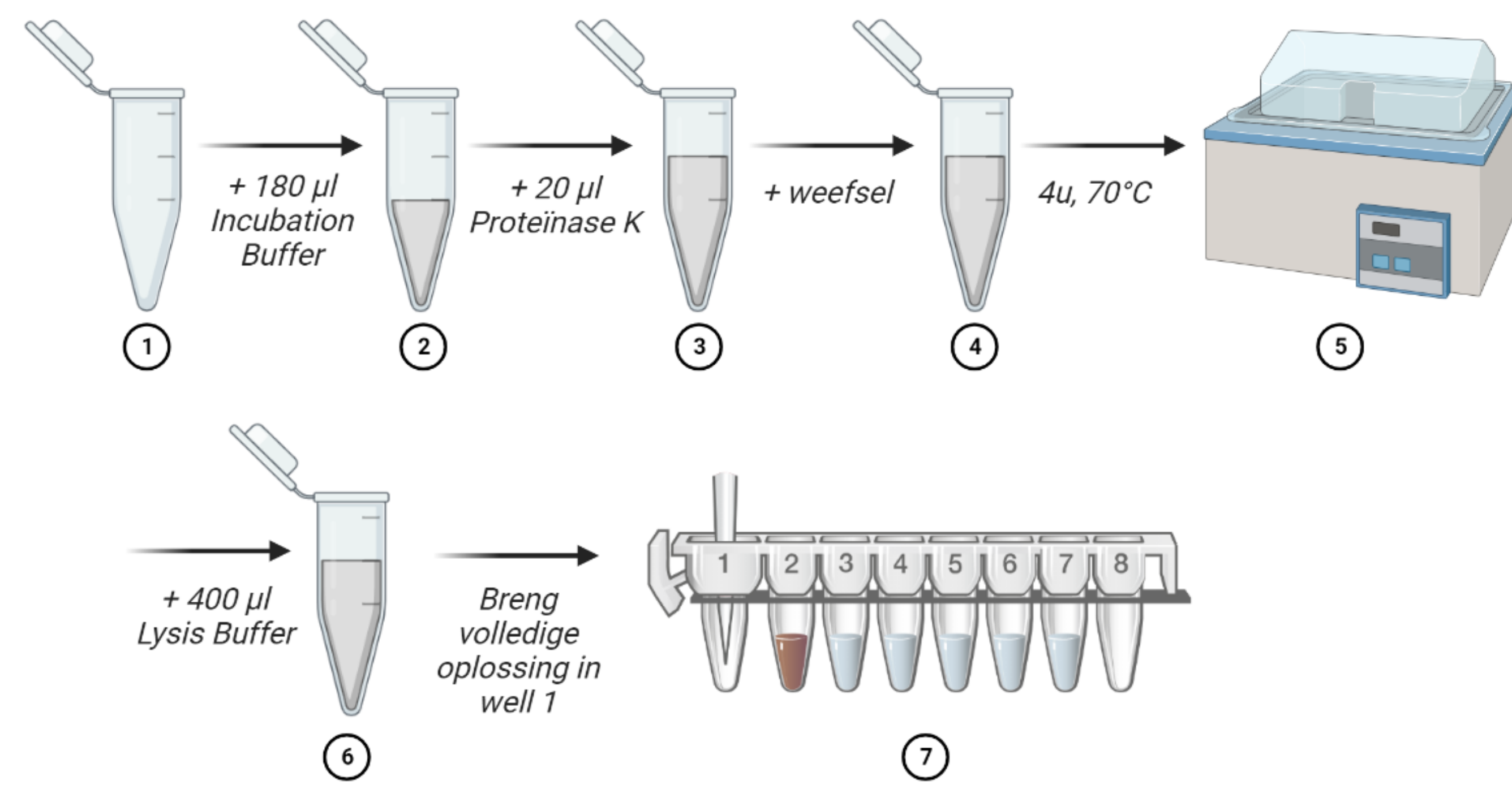
De DNA en RNA extractie wordt uitgevoerd binnen het Centrum Menselijke Erfelijkheid, maar behoort tot een multidisciplinaire samenwerking voor de moleculaire diagnostiek van vaste weefsel tumoren. De FFPE-coupees (Formalin-Fixed Paraffin-Embedded) nodig voor deze extractie worden gemaakt door de dienst pathologie van UZ Leuven. De DNA en RNA extractie volgen een gelijkaardig principe van opzuivering, voor beide wordt gebruik gemaakt van een Maxwell kit (Promega). De kit bevat oplossingen met chaotropische zouten, detergenten, proteïnase K en magnetische beads om zuiver DNA/RNA te verkrijgen. Het doel van de extractie is om een geoptimaliseerde input te verkrijgen voor downstream toepassing zoals bijvoorbeeld PCR, RT-PCR en NGS.

## Methode

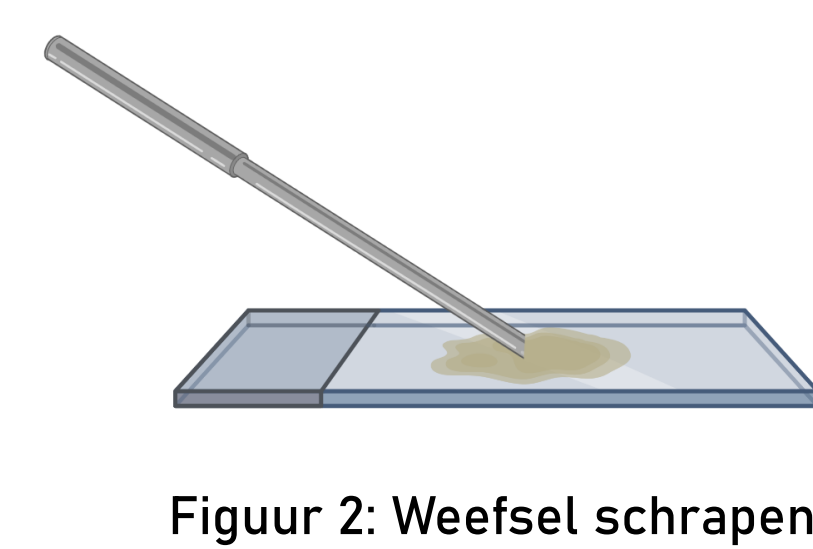
### DNA extractie

Deparaffineren:

- 2x 10 min in Histo-Clear (National Diagnostics)
- 2x 5 min in Ethanol 96% (VWR Chemicals)
- 30 min drogen

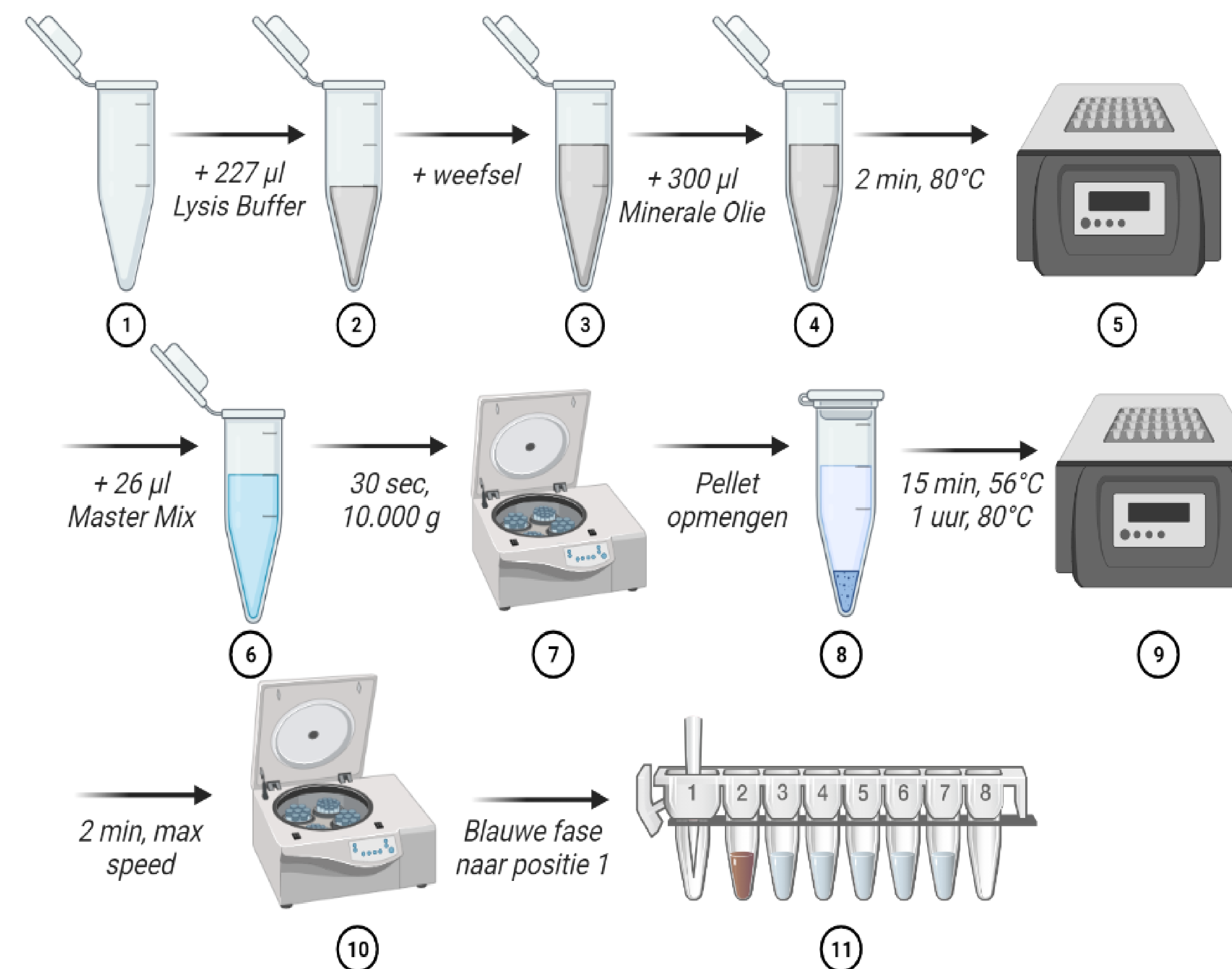


Figuur 1: DNA extractie



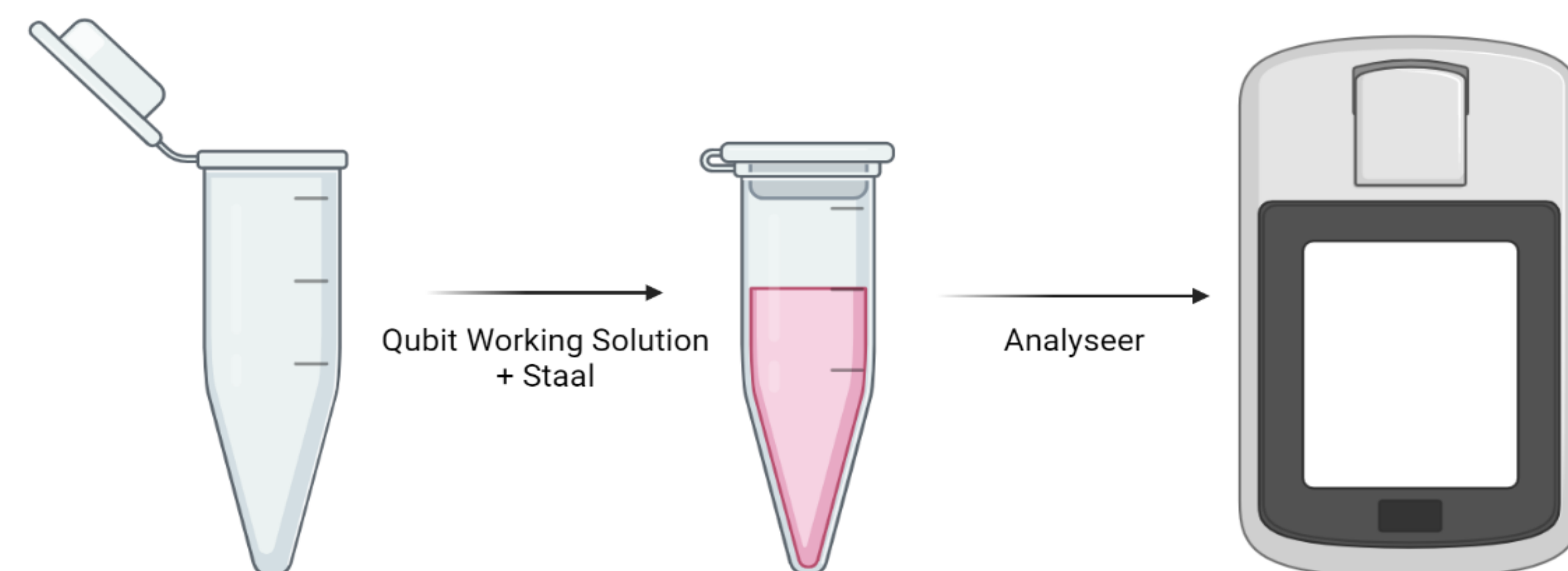
Figuur 2: Weefsel schrappen

### RNA extractie



Figuur 3: RNA extractie

### Qubit meting



Figuur 4: Qubit (Thermo Fisher Scientific)

## Resultaten

Stalen	DNA Concentratie (ng/µl)	Stalen	RNA Concentratie (ng/µl)
LV	162,0	GC	19,6
MW	43,4	DR	56,0
AB	6,9	DM	8,4
SD	258,0	VG	31,8
GG	18,5	RR	22,9

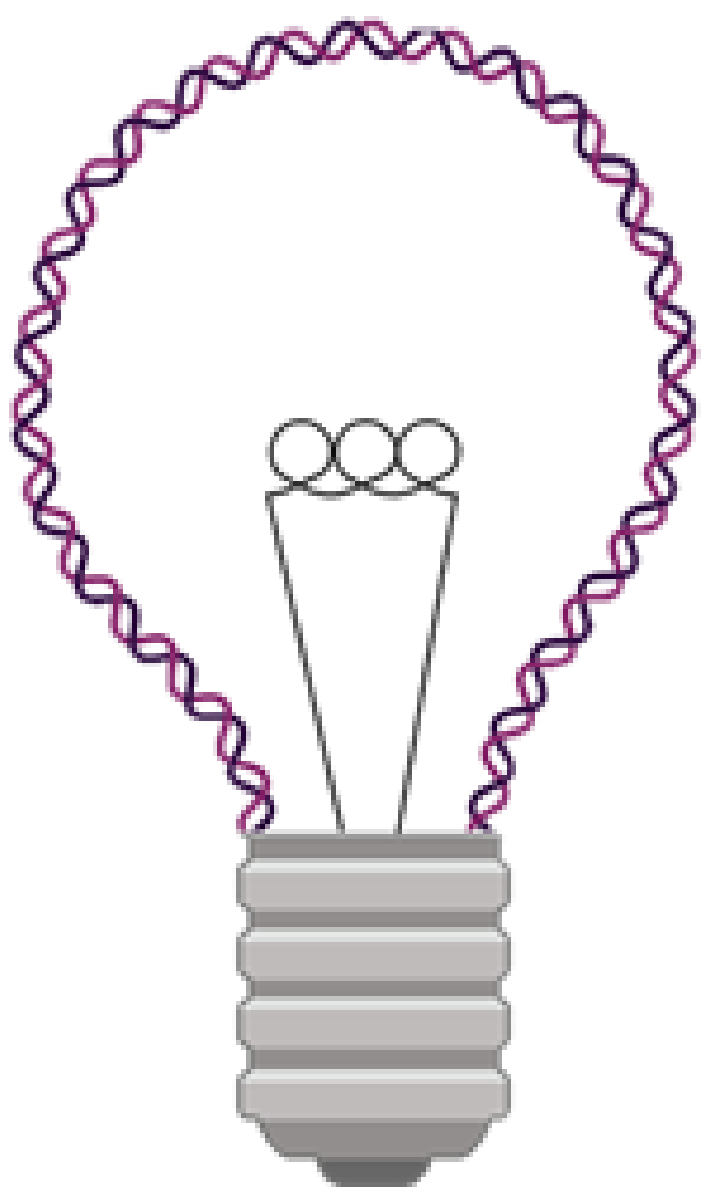
Tabel 1: DNA concentratie

Tabel 2: RNA concentratie

In tabel 1 en 2 zijn voorbeelden weergegeven van vijf DNA Qubit metingen en vijf RNA Qubit metingen met verschillende concentraties. De dsDNA Broad Range assay kit (Thermo Fisher Scientific) meet concentraties tussen 0,2-2000 ng/µl en de RNA High Sensitivity (Thermo Fisher Scientific) meet concentraties van 250 pg/µl tot 100 ng/µl. De concentraties uit tabel 1 en 2 vallen binnen deze limieten.

## Conclusie

De DNA en RNA-extractie uit FFPE-weefselcoupees is de eerste stap in een cascadetesting voor de moleculaire diagnostiek van vaste weefsel tumoren. Het is belangrijk dat deze extracties zo correct mogelijk verlopen om voldoende zuiver DNA of RNA te bekomen voor de downstream toepassingen. De semi-automatische methode via Maxwell RSC 48 (Promega) zorgt voor een goede opzuivering van DNA en RNA om de optimale input van downstream toepassingen te bereiken. Door de Maxwell® RSC FFPE Plus DNA Kit (Promega) en Maxwell® RSC RNA FFPE Kit (Promega) verloopt de extractie op een vlotte en gebruiksvriendelijke manier voor routinematige opzuivering.



## Referenties

1. Labo procedure CEMOL-MT075-PR, Werkwijze, CEMOL-MT075-WW01-M14, protocol eigenaar: Frederik Claessens. DNA extractie uit formaldehyde fixed paraffin embedded tissue. UZ Leuven; toepassingsdatum: 23/4/2020
2. Labo procedure CEMOL-MT269-PR, Werkwijze CEMOL-MT269-WW01-M02, protocol eigenaar: Frederik Claessens. RNA extractie uit formaldehyde fixed paraffin embedded tissue. UZ Leuven; toepassingsdatum: 12/8/2019