

# RNeasy<sup>®</sup> DSP FFPE Kit Gebrauchsanweisung (Handbuch)



50

Version 2

**IVD**

Für in-vitro-diagnostische Anwendungen.  
Zur Verwendung mit dem RNeasy DSP FFPE Kit

**CE**

**REF**

73604



**R1 MAT**

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Deutschland

1127532DE

# Inhalt

Verwendungszweck .....	4
Vorgesehene Anwender .....	4
Beschreibung und Prinzip .....	5
Zusammenfassung und Erläuterung .....	5
Verfahrensprinzipien .....	6
Im Lieferumfang enthaltene Materialien .....	8
Kit-Inhalt .....	8
Bestandteile des Kits .....	9
Erforderliche, nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien .....	10
Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen .....	11
Sicherheitshinweise .....	11
Informationen für Notfälle .....	12
Vorsichtsmaßnahmen .....	12
Lagerung und Handhabung der Reagenzien .....	14
Stabilität nach dem Öffnen .....	14
Kitkomponenten .....	14
Verfahren .....	15
Wichtige Hinweise vor Beginn .....	15
Vorbereitung der Puffer .....	16
Vorbereitende Schritte .....	17
Protokoll: Aufreinigung von Gesamt-RNA aus FFPE-Gewebeschnitten .....	18
Qualitätskontrolle .....	23

Grenzen des Assays .....	23
Leistungsmerkmale .....	24
Entsorgung.....	25
Hilfe zur Fehlerbehebung.....	26
Symbole .....	29
Kontakt.....	31
Anhang: Allgemeine Hinweise zur Handhabung von RNA .....	32
Bestellinformationen .....	35
Bearbeitungshistorie des Dokuments.....	36

## Verwendungszweck

Das RNeasy DSP FFPE Kit ist ein System zur manuellen Aufreinigung von Gesamt-RNA aus formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem (Formalin-Fixed, Paraffin Embedded, FFPE) Gewebe.

Es arbeitet mit einem optimierten, auf Silika-Spin-Säulen basierenden Protokoll und umfasst die enzymatische Entfernung von DNA-Rückständen.

Das RNeasy DSP FFPE Kit ist für den in-vitro-diagnostischen Gebrauch vorgesehen.

## Vorgesehene Anwender

Das Produkt darf nur von Fachpersonal wie z. B. technischen Angestellten und Ärzten, die in der Anwendung molekularbiologischer Techniken geschult sind, verwendet werden.

# Beschreibung und Prinzip

## Zusammenfassung und Erläuterung

Das RNeasy DSP FFPE Kit ist speziell für die Aufreinigung von Gesamt-RNA aus formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten (Formalin-Fixed, Paraffin Embedded, FFPE) Gewebeschnitten vorgesehen. Durch Isolierung von RNA-Molekülen mit mehr als 70 Nukleotiden Länge ermöglicht das Kit die Gewinnung von verwendbaren RNA-Fragmenten für Anwendungen wie z. B. RT-PCR.

Aufgrund der Fixierungs- und Einbettungsbedingungen liegen die Nukleinsäuren in FFPE-Proben in der Regel fragmentiert und durch Formaldehyd chemisch modifiziert vor. Aus diesem Grund haben aus FFPE-Proben isolierte Nukleinsäuren häufig ein niedrigeres Molekulargewicht als aus frischen oder gefrorenen Proben gewonnene. Der Grad der Fragmentierung hängt von Art und Alter der Probe sowie den Fixierungs-, Einbettungs- und Lagerungsbedingungen der Probe ab. Zur Standardisierung von Verfahren zur Voruntersuchung von FFPE-Gewebe empfehlen wir, gemäß ISO 20166-1:2018 „Molekularanalytische in-vitro-diagnostische Verfahren – Spezifikationen für präanalytische Prozesse für formalinfixierte und paraffineingebettete (FFPE)-Gewebeproben – Teil 1: Isolierte RNA“ vorzugehen.

Formaldehyd-Modifikationen können im Rahmen von Standard-Qualitätskontrollassays wie z. B. Gelelektrophorese oder Lab-on-a-Chip-Analyse nicht nachgewiesen werden, beeinträchtigen enzymatische Analysen jedoch stark.

Obwohl das RNeasy DSP FFPE Kit dahingehend optimiert ist, Formaldehyd-Modifikationen möglichst weitgehend rückgängig zu machen, ohne dass ein weiterer RNA-Abbau erfolgt, sollten aus FFPE-Proben aufgereinigte Nukleinsäuren nicht für nachgelagerte Anwendungen verwendet werden, bei denen RNA in voller Länge benötigt wird. Für einige Anwendungen können Modifikationen erforderlich sein, um die Verwendung fragmentierter RNA zu ermöglichen (z. B. beim Design kleiner Amplifikate für die RT-PCR). Für die cDNA-Synthese sollten anstelle von Oligo-dT-Primern entweder Zufalls- oder genspezifische Primer verwendet werden.

Färben der FFPE-Schnitte kann ebenfalls die Qualität und Leistung der RNA in nachgelagerten Anwendungen beeinträchtigen. Dies gilt insbesondere für viele immunhistochemische Färbeprotokolle.

## Verfahrensprinzipien

Das RNeasy DSP FFPE-Verfahren nutzt die bewährte RNeasy-Technologie zur RNA-Aufreinigung. Speziell optimierte Lysebedingungen ermöglichen die effektive Aufreinigung von Gesamt-RNA aus FFPE-Gewebeschnitten. Im DNase-I-Verdauerschritt werden Kontaminationen mit DNA, einschließlich hochgradig fragmentierter Moleküle, effizient entfernt.

Zunächst wird durch Behandlung mit Deparaffinization Solution das gesamte Paraffin aus den FFPE-Gewebeschnitten entfernt. Anschließend werden die Proben in einem optimierten Lysepuffer inkubiert, der Proteinase K enthält, um die RNA aus den Schnitten freizusetzen. Eine kurze Inkubation bei höherer Temperatur macht in den freigesetzten Nukleinsäuren vorhandene Formalin-Quervernetzungen teilweise rückgängig, wodurch die RNA-Ausbeute und -Qualität sowie die RNA-Leistung in nachgelagerten enzymatischen Assays verbessert werden. Darauf folgt eine DNase-I-Behandlung zur Eliminierung genomischer DNA, bei der auch sehr kleine DNA-Fragmente entfernt werden, die nach längerer Formalinfixierung und/oder langen Lagerungszeiten häufig in FFPE-Proben vorliegen. Anschließend wird das Lysat mit Buffer RBC vermischt. Durch Zugabe von Ethanol werden geeignete Bindungsbedingungen für die RNA geschaffen, und die Probe wird auf eine RNeasy MinElute Spin Column aufgetragen, in der die Gesamt-RNA an die Membran bindet und Kontaminanten effizient ausgewaschen werden. Die RNA wird dann in mindestens 14 µl RNase-freiem Wasser eluiert.

## RNeasy DSP FFPE Kit Verfahren

FFPE-Gewebeschnitte

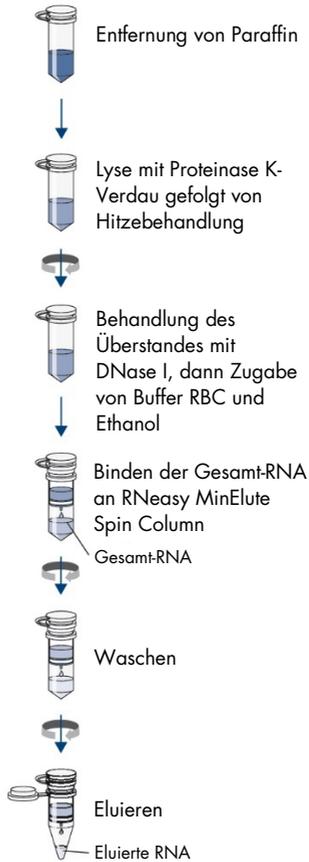


Abbildung 1. Verfahren zur RNA-Aufreinigung aus FFPE-Gewebe mit dem RNeasy DSP FFPE Kit.

# Im Lieferumfang enthaltene Materialien

## Kit-Inhalt

<b>RNeasy DSP FFPE Kit</b>	<b>(50)</b>
<b>Katalog-Nr.</b>	<b>73604</b>
<b>Anzahl Präparationen</b>	<b>50</b>

	Identität	Symbole	Menge
RNeasy MinElute Spin	RNeasy MinElute® Spin Columns (pink) (jeweils in einem 2-ml-Entnahmeröhrchen)	<b>COL</b>	50
ET	Elution Tubes (Elutionsröhrchen) (1,5 ml)	<b>ELU TUBE</b>	50
LT	Lysis Tubes (Lyseröhrchen) (2 ml)	<b>LYS TUBE</b>	150
WT	Wash Tubes (Waschröhrchen) (2 ml)	<b>WASH TUBE</b>	250
DPS	Deparaffinization Solution	<b>DEPAR SOL</b>	20 ml
RBC	Buffer RBC*	<b>BIND BUF</b>	45 ml
PKD	Buffer PKD	<b>PROTK DIL</b>	15 ml
PK	Proteinase K	<b>PROTK</b>	1,25 ml
DN	RNase-Free DNase I (RNase-freie DNase I) (lyophilisiert)	<b>DNase</b>	1
RNFW	RNase-freies Wasser (RNase-freies Wasser)	<b>ELU DIL</b>	3 × 1,5 ml
DBB	DNase Booster Buffer	<b>DNase BUF</b>	2 ml
RPE	Buffer RPE† (Konzentrat)	<b>WASH BUF CONC</b>	11 ml
HB, v2	RNeasy DSP FFPE Kit Handbuch		1

\* Enthält ein Guanidinsalz. Nicht verträglich mit bleichehaltigen Desinfektionsmitteln. Sicherheitshinweise finden Sie auf Seite 11.

† Geben Sie vor der ersten Verwendung, wie auf der Flasche angegeben und auf Seite 16 beschrieben, 4 Volumen Ethanol (96–100 %, nicht denaturiert) zu, um eine gebrauchsfertige Arbeitslösung herzustellen.

## Bestandteile des Kits

Die Hauptbestandteile des Kits sind im Folgenden beschrieben.

**Tabelle 1. Bereitgestellte Reagenzien mit aktiven Inhaltsstoffen**

Reagenz		Komponenten	Volumen
Symbol	Name		
DPS	Deparaffinization Solution	Hexadecan	≥ 90 % bis ≤ 100 % w/w
RBC	Buffer RBC	Guanidinhydrochlorid	≥ 30 % bis 70 % w/w
PKD	Buffer PKD	Keine	–
PK	Proteinase K	Proteinase K	≥ 1 % bis < 3 % w/w
DN	RNase-Free DNase I (RNase-freie DNase I) (lyophilisiert)	DNase	≥ 90 % bis ≤ 100 % w/w
RNFW	RNase-freies Wasser (RNase-freies Wasser)	Keine	–
DBB	DNase Booster Buffer	Keine	–
RPE	Buffer RPE (Konzentrat)	Keine	–

Um das Risiko negativer Auswirkungen auf nach der RNA-Isolierung gewonnene diagnostische Ergebnisse zu minimieren, sollten in nachgelagerten Anwendungen geeignete Kontrollen mitgeführt werden.

# Erforderliche, nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen geeigneten Laborkittel, Einmal-Handschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen entnehmen Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern, die vom Hersteller des jeweiligen Produkts bereitgestellt werden.

Stellen Sie sicher, dass die Geräte gemäß den Empfehlungen des Herstellers geprüft und kalibriert wurden.

- Sterile, RNase-freie Pipettenspitzen und Pipetten
- Mikrozentrifuge (mit Rotor für 2-ml-Röhrchen)
- Vortexer
- 96–100 % Ethanol (keinen denaturierten Alkohol verwenden, der andere Stoffe wie z. B. Methanol oder Methylalkohol enthält)
- Einweghandschuhe
- Heizblock mit Schüttelfunktion zur Inkubation bei 56 °C und 80 °C

# Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

Bitte beachten Sie, dass Sie ggf. verpflichtet sind, Ihre lokalen Vorschriften zur Meldung schwerwiegender Vorfälle, die im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten sind, an den Hersteller und die Regulierungsbehörde, welcher der Anwender und/oder der Patient unterliegt, zu konsultieren.

Alle vorgesehenen Verfahren zur Risikominderung wurden, sofern möglich, zu diesem Zeitpunkt der Produktentwicklung eingeführt und systematisch überprüft. Basierend auf dem Risikomanagement wird das Gesamtrisiko als akzeptabel und die Verwendung des Produkts als sicher angesehen. Für das RNeasy DSP FFPE Kit bestehen keine Restrisiken.

Für in-vitro-diagnostische Anwendungen.

Lesen Sie alle Anweisungen vor Verwendung des Kits genau durch.

## Sicherheitshinweise

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen geeigneten Laborkittel, Einmal-Handschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen finden Sie in den jeweiligen Sicherheitsdatenblättern (Safety Data Sheets, SDS). Zu jedem QIAGEN-Kit und zu jeder Kitkomponente können Sie das jeweilige SDS im PDF-Format online unter [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) abrufen, einsehen und ausdrucken.

WARNUNG Verletzungsgefahr



GEBEN SIE KEINE Chlorbleiche oder saure Lösungen direkt in den Flüssigabfall, der während der Probenvorbereitung anfällt.

Die Puffer im RNeasy DSP FFPE Kit enthalten Natriumazid. Wenn Puffer aus dem Kit verschüttet wird, reinigen Sie mit einem geeigneten Labordetergens und Wasser. Wenn die verschüttete Flüssigkeit potenziell Infektionserreger enthält, reinigen Sie den betroffenen Bereich zuerst mit einem Laborreinigungsmittel und Wasser und danach mit 1 % (v/v) Natriumhypochlorit.

## Informationen für Notfälle

CHEMTREC

USA und Kanada 1-800-424-9300

Außerhalb der USA und Kanadas +1 703 527-3887

## Vorsichtsmaßnahmen

Für die Komponenten des RNeasy DSP FFPE Kit gelten die folgenden Gefahren- und Sicherheitssätze.

PKD, RPE, RNF, DBB

Enthält: Natriumazid. Warnung! Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.

### Deparaffinization Solution



Enthält: Hexadecan. Gefahr! Kann bei Verschlucken und Eindringen in die Atemwege tödlich sein. Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenreizung. Kann die Atemwege reizen. Kann für Wasserorganismen schädlich sein, mit langfristiger Wirkung. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Bei Exposition oder falls betroffen: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. KEIN Erbrechen herbeiführen. Unter Verschluss aufbewahren. Inhalt/Behälter einer zugelassenen Entsorgungsanlage zuführen.

### Proteinase K



Enthält: Proteinase K. Gefahr! Verursacht leichte Hautreizungen. Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen. Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Atemschutz tragen. Bei Exposition oder falls betroffen: GIFTINFORMATIONSZENTRUM anrufen oder Arzt hinzuziehen. Die betroffene Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. Inhalt/Behälter einer zugelassenen Entsorgungsanlage zuführen.

### DNase I



Enthält: DNase. Gefahr! Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen. Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Atemschutz tragen. Bei Exposition oder falls betroffen: GIFTINFORMATIONSZENTRUM anrufen oder Arzt hinzuziehen. Die betroffene Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen.

### Buffer RBC



Enthält: Guanidinhydrochlorid. Warnung! Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Einatmen. Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenreizung. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

### DNase Booster Buffer



Warnung! Verursacht leichte Hautreizungen. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

# Lagerung und Handhabung der Reagenzien

RNase-freie DNase I und RNeasy MinElute Spin Columns müssen unmittelbar nach dem Empfang bei 2–8 °C gelagert werden. Die Puffer können bei Raumtemperatur (15–25 °C) gelagert werden. Unter diesen Bedingungen kann das Kit ohne Leistungsminderung bis zum auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum gelagert werden.

Verwenden Sie das RNeasy DSP FFPE Kit nicht nach Ablauf des Verfallsdatums.

## Stabilität nach dem Öffnen

Das Kit kann nach der ersten Verwendung 10 Monate lang oder bis zum Verfallsdatum verwendet werden.

## Kitkomponenten

Das Verfallsdatum ist auf dem Etikett des jeweiligen Reagenzes angegeben. Die Leistungsmerkmale des Produkts bleiben bei Verwendung der vorgeschriebenen Lagerungsbedingungen über den Haltbarkeitszeitraum erhalten. Es müssen jedoch Komponenten aus der gleichen Charge verwendet werden.

Für eine längerfristige Lagerung der DNase I nach Rekonstitution entnehmen Sie die Stammlösung aus dem Fläschchen, teilen Sie sie in Aliquote für den Einmalgebrauch auf und bewahren Sie diese bis zu 10 Monate lang bei –15 bis –30 °C auf. Aufgetaute Aliquote können bis zu 8 Wochen bei 2–8 °C gelagert werden. Nach dem Auftauen dürfen die Aliquote nicht wieder eingefroren werden.

Vermeiden Sie es, die Reagenzien mit UV-Licht zu bestrahlen (z. B. mit einer UV-Dekontaminationslampe), da die Bestrahlung zu einer schnelleren Alterung führen kann.

# Verfahren

## Wichtige Hinweise vor Beginn

### Ausgangsmaterial

Standardmäßige Verfahren zur Formalinfixierung und Paraffineinbettung führen stets zu einer erheblichen Fragmentierung und Quervernetzung der Nukleinsäuren. Beachten Sie zur Begrenzung des Ausmaßes der Fragmentierung und Quervernetzung von Nukleinsäuren folgende Punkte:

- Gewebeproben von weniger als 5 mm Dicke verwenden, um eine vollständige Durchdringung mit Formalin zu ermöglichen
- Gewebeproben so schnell wie möglich nach der chirurgischen Entnahme in 4–10 % neutralgepuffertem Formalin fixieren
- Mit einer maximalen Fixierungszeit von 24 Stunden arbeiten (längere Fixierungszeiten führen zu Überfixierung und schwererer Nukleinsäurefragmentierung, was die Leistung nachgelagerter Assays beeinträchtigt).
- Proben vor dem Einbetten gründlich dehydrieren
- Zum Einbetten niedrigschmelzendes Paraffin verwenden

Bei dem Ausgangsmaterial für die RNA-Aufreinigung sollte es sich um FFPE-Gewebeschnitte mit einer Dicke von jeweils bis zu 20 µm handeln. Dickere Schnitte können zu niedrigeren Nukleinsäureausbeuten führen, auch nach längerer Inkubation mit Proteinase K. In einer Präparation können bis zu 4 Schnitte mit einer Dicke von jeweils bis zu 10 µm kombiniert werden. Wenn die Gesamtdicke der Schnitte 40 µm oder weniger beträgt, können mehr als 4 Schnitte kombiniert werden (z. B. 8 Schnitte je 5 µm Dicke).

Bei Geweben mit besonders hohem DNA-Gehalt empfehlen wir die Verwendung von weniger Schnitten pro Präparation, um eine DNA-Kontamination der aufgereinigten RNA zu vermeiden.

Wenn keine Informationen über die Art Ihres Ausgangsmaterials vorliegen, empfehlen wir, mit höchstens 2 Schnitten pro Präparation zu beginnen. Je nach RNA-Ausbeute und -Reinheit kann es möglich sein, in nachfolgenden Präparationen bis zu 4 Schnitte zu verwenden. Eine Überbeladung der RNeasy MinElute Spin Column kann jedoch eine signifikante Verringerung der RNA-Ausbeute und -Qualität zur Folge haben.

## Vorbereitung der Puffer

### Vorbereitung der DNase-I-Stammlösung

Setzen Sie die DNase-I-Stammlösung an, indem Sie die lyophilisierte DNase I in 550 µl RNase-freiem Wasser auflösen. Öffnen Sie das Fläschchen nicht, um einen Verlust von DNase I zu vermeiden. Injizieren Sie mit einer RNase-freien Nadel und Spritze RNase-freies Wasser in das Fläschchen. Mischen Sie vorsichtig durch Umschwenken des Fläschchens. Verwenden Sie keinen Vortexer.

In einigen Fällen kann das Fläschchen mit DNase I leer erscheinen. Dies ist darauf zurückzuführen, dass das lyophilisierte Enzym am Septum haftet. Öffnen Sie das Fläschchen nicht, um einen Verlust von DNase I zu vermeiden. Lösen Sie stattdessen die DNase I wie nachfolgend beschrieben mithilfe einer Nadel und Spritze auf.

Hinweis: DNase I ist besonders anfällig für physikalische Denaturierung. Mischen Sie nur durch vorsichtiges Schwenken und Umdrehen des Fläschchens.

Hinweis: Bitte achten Sie darauf, das gesamte RNase-freie Wasser in das Fläschchen zu spritzen.

Nach dem Auflösen der DNase I kann unlösliches Material zurückbleiben. Aufgrund des Herstellungsprozesses kann in der lyophilisierten DNase I unlösliches Material vorhanden sein. Dies beeinträchtigt nicht die Leistung der DNase I.

Für eine längerfristige Lagerung der DNase I entnehmen Sie die Stammlösung aus dem Fläschchen, teilen Sie sie in Aliquote für den Einmalgebrauch auf und bewahren Sie diese bis zu 10 Monate lang bei  $-15$  bis  $-30$  °C auf. Aufgetaute Aliquote können bis zu 8 Wochen bei  $2-8$  °C gelagert werden. Nach dem Auftauen dürfen die Aliquote nicht wieder eingefroren werden.

## Vorbereitung von Buffer RPE

Geben Sie 4 Volumen (44 ml) Ethanol (96–100 %) in die Flasche mit 11 ml Buffer RPE-Konzentrat. Haken Sie das Kästchen auf dem Flaschenetikett ab, damit ersichtlich ist, dass Ethanol zugegeben wurde.

Hinweis: Mischen Sie vor Beginn des Verfahrens den rekonstituierten Buffer RPE, indem Sie ihn schütteln.

## Vorbereitende Schritte

- Wenn Sie das RNeasy DSP FFPE Kit zum ersten Mal verwenden, lesen Sie bitte „Wichtige Hinweise vor Beginn“ (Seite 15).
- Wenn Sie zum ersten Mal mit RNA arbeiten, lesen Sie bitte „Anhang: Allgemeine Hinweise zur Handhabung von RNA“ (Seite 31).
- Buffer RBC enthält ein Guanidinsalz und ist somit nicht mit bleichehaltigen Desinfektionsreagenzien verträglich. Sicherheitshinweise finden Sie auf Seite 11.
- Sofern nicht anders angegeben, sind alle Schritte des Verfahrens bei Raumtemperatur ( $15-25$  °C) durchzuführen. Arbeiten Sie zügig und ohne Unterbrechungen.

- Führen Sie alle Zentrifugationsschritte in einer auf 15–25 °C eingestellten Mikrozentrifuge durch. Falls Sie eine gekühlte Mikrozentrifuge verwenden, stellen Sie die Temperatur auf 20–25 °C, da es andernfalls zu einer Abkühlung auf deutlich unter 15 °C kommen kann.
- In folgendem Verfahren gibt ▲ das Volumen an, das bei Verarbeitung von 1–2 Schnitten pro Probe zu verwenden ist, während ● das Volumen angibt, das bei Verarbeitung von 3–4 Schnitten pro Probe zu verwenden ist.
- Wenn Sie Buffer RPE und RNase-freie DNase I zum ersten Mal verwenden, rekonstituieren Sie sie gemäß der Beschreibung in „Vorbereitung der Puffer“ (Seite 16).
- Lassen Sie alle Puffer auf Raumtemperatur (15–25 °C) äquilibrieren. Mischen Sie den rekonstituierten Buffer RPE durch Schütteln.
- Stellen Sie einen Thermomixer für die Verwendung in den Schritten 5 und 9 auf 56 °C ein. Um die Wartezeit zu verkürzen, stellen Sie einen zweiten Thermomixer für die Verwendung in Schritt 9 auf 80 °C ein.
- Hinweis: Das Aufreinigungsverfahren darf nicht unterbrochen werden, da zu lange Inkubationszeiten zu einem Verlust oder Abbau von RNA führen können. Die durchschnittliche Verarbeitungszeit bei bis zu 12 gleichzeitig verarbeiteten Proben beträgt etwa 130 Minuten.

## Protokoll: Aufreinigung von Gesamt-RNA aus FFPE-Gewebeschnitten

1. Schneiden Sie mit einem Skalpell überschüssiges Paraffin vom Probenblock ab.
2. Schneiden Sie Schnitte mit einer Dicke von 5–20 µm.  
War die Oberfläche der Probe Luft ausgesetzt, entsorgen Sie die ersten 2–3 Schnitte.
3. Geben Sie die Schnitte sofort in ein ▲ 1,5-ml- oder ● 2-ml-Mikrozentrifugenröhrchen und schließen Sie den Deckel.
4. Geben Sie ▲ 160 oder ■ 320 µl Deparaffinization Solution zu, vortexen Sie 10 s lang gründlich und zentrifugieren Sie kurz, damit sich die Probe am Boden des Röhrchens sammelt.

5. Inkubieren Sie das Röhrchen 3 min lang bei 56 °C und lassen Sie es dann 5 min lang bei Raumtemperatur abkühlen.

Wird zu wenig Deparaffinization Solution verwendet oder zu viel Paraffin mit der Probe verschleppt, kann die Deparaffinization Solution nach dem Abkühlen eine wachsartige oder feste Konsistenz annehmen. Geben Sie in diesem Fall in 160- $\mu$ l-Schritten zusätzliche Deparaffinization Solution zu und wiederholen Sie Schritt 5.

6. Geben Sie ▲ 150 oder ● 240  $\mu$ l Buffer PKD zu und mischen Sie durch 3-sekündiges Vortexen.
7. Zentrifugieren Sie 1 min bei 11.000 x g.
8. Geben Sie 10  $\mu$ l Proteinase K zu der unteren, durchsichtigen Phase und mischen Sie durch vorsichtiges 10-maliges Auf- und Abpipettieren (getrennte Phasen nicht mischen).
9. Inkubieren Sie 15 min lang bei 56 °C und 1100 U/min und anschließend 15 min lang bei 80 °C und 1100 U/min.

Wenn Sie nur einen Heizblock verwenden, lassen Sie die Probe nach der Inkubation bei 56 °C bei Raumtemperatur stehen, bis sich der Block auf 80 °C erwärmt hat.

Hinweis: Ein vollständiger Gewebeverdaulichkeit durch Proteinase K ist für eine maximale RNA-Ausbeute nicht erforderlich; der Inkubationsschritt bei 80 °C ist jedoch wesentlich.

Wichtig: Stellen Sie vor Beginn der 15-minütigen Inkubation sicher, dass der Heizblock 80 °C erreicht hat. Die 15-minütige Inkubation bei 80 °C ist wesentlich, um die Formaldehyd-Quervernetzungen rückgängig zu machen und eine optimale RNA-Leistung in nachgelagerten Anwendungen, wie z. B. Real-time RT-PCR, zu erreichen.

10. Zentrifugieren Sie kurz und überführen Sie ▲ 145 oder ● 230  $\mu$ l der unteren, farblosen Phase in ein neues 1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen.
11. Inkubieren Sie 3 min lang auf Eis. Zentrifugieren Sie dann 15 min lang bei 20.000 x g.
12. Überführen Sie den Überstand in eine neue 2-ml-Mikrozentrifuge. Achten Sie dabei darauf, dass das Pellet intakt bleibt.

Das Pellet enthält unlösliche Gewebereste, einschließlich quervernetzter DNA.

13. Geben Sie ein Volumen an DNase Booster Buffer, das einem Zehntel des gesamten Probenvolumens entspricht (▲ 14,5 oder ● 23 µl), und 10 µl DNase-I-Stammlösung zu. Mischen Sie durch Umschwenken des Röhrchens. Zentrifugieren Sie kurz, um Restflüssigkeit von den Seiten des Röhrchens zu sammeln.

Hinweis: DNase I wird lyophilisiert bereitgestellt und muss wie unter „Vorbereitung der DNase-I-Stammlösung“ auf Seite 16 beschrieben rekonstituiert werden.

Hinweis: DNase I ist besonders anfällig für Denaturierung. Mischen Sie nur durch vorsichtiges Schwenken und Umdrehen des Röhrchens. Verwenden Sie keinen Vortexer.

14. Inkubieren Sie 15 min lang bei Raumtemperatur.

15. Geben Sie ▲ 320 oder ● 500 µl Buffer RBC zu, um die Bindungsbedingungen einzustellen, mischen Sie das Lysat 3 Sekunden lang gründlich durch Vortexen und zentrifugieren Sie kurz.

16. Geben Sie ▲ 720 µl oder ■ 1200 µl Ethanol (96–100 %) zur Probe. Zentrifugieren Sie nicht. Fahren Sie sofort mit Schritt 17 fort.

Nach Zugabe von Ethanol können Niederschläge sichtbar sein. Das Verfahren wird dadurch nicht beeinträchtigt.

17. Mischen Sie gründlich durch 5-maliges Auf- und Abpipettieren und überführen Sie 700 µl Probe, einschließlich eventueller Niederschläge, in eine RNeasy MinElute Spin Column in einem 2-ml-Entnahmeröhrchen. Schließen Sie vorsichtig den Deckel und zentrifugieren Sie 15 s lang bei  $\geq 8.000 \times g$ . Entsorgen Sie das Entnahmeröhrchen mit dem Durchfluss\* und setzen Sie die Säule in ein neues Entnahmeröhrchen (im Lieferumfang enthalten).

18. Wiederholen Sie Schritt 17 (ohne zusätzliches Mischen), bis die gesamte Probe die RNeasy MinElute Spin Column passiert hat.

\* Der Durchfluss enthält Buffer RBC und ist daher nicht mit Bleiche verträglich. Sicherheitshinweise finden Sie auf Seite 8.

19. Geben Sie 500 µl Buffer RPE auf die RNeasy MinElute Spin Column. Schließen Sie vorsichtig den Deckel und zentrifugieren Sie 15 s lang bei  $\geq 8.000 \times g$ . Entsorgen Sie das Entnahmeröhrchen mit dem Durchfluss\* und setzen Sie die Säule in ein neues Entnahmeröhrchen (im Lieferumfang enthalten).

Hinweis: Buffer RPE liegt als Konzentrat vor. Stellen Sie sicher, dass wie unter „Vorbereitung von Buffer RPE“ beschrieben vor der Verwendung Ethanol zugegeben wird.

20. Geben Sie 500 µl Buffer RPE auf die RNeasy MinElute Spin Column. Schließen Sie vorsichtig den Deckel und zentrifugieren Sie 2 min lang bei  $\geq 8.000 g$ , um die Membran der Spin Column zu waschen. Entsorgen Sie das Entnahmeröhrchen mit dem Durchfluss\* und setzen Sie die Säule in ein neues Entnahmeröhrchen (im Lieferumfang enthalten).

Hinweis: Entnehmen Sie die RNeasy MinElute Spin Column nach der Zentrifugation vorsichtig aus dem Entnahmeröhrchen und achten Sie darauf, dass die Säule nicht mit dem Eluat in Berührung kommt. Anderenfalls könnte es zu einer Verschleppung von Ethanol kommen.

21. Öffnen Sie den Deckel der Spin-Säule und zentrifugieren Sie 5 min lang bei maximaler Drehzahl. Entsorgen Sie das Entnahmeröhrchen mit dem Durchfluss.

Um Schäden an ihren Deckeln zu vermeiden, stellen Sie die Spin-Säulen so in die Zentrifuge, dass zwischen den Säulen mindestens eine leere Position vorhanden ist. Richten Sie die Deckel so aus, dass sie gegen die Drehrichtung des Rotors zeigen (wenn sich der Rotor also im Uhrzeigersinn dreht, müssen die Deckel gegen den Uhrzeigersinn zeigen und umgekehrt).

Die Membran der Spin-Säulen muss unbedingt getrocknet werden, da Ethanolrückstände die nachgelagerten Reaktionen beeinträchtigen können. Durch Zentrifugation bei geöffneten Deckeln wird sichergestellt, dass bei der RNA-Elution kein Ethanol verschleppt wird.

\* Der Durchfluss enthält Buffer RBC und ist daher nicht mit Bleiche verträglich. Sicherheitshinweise finden Sie auf Seite 8.

22. Stellen Sie die RNeasy MinElute Spin Column in ein neues 1,5-ml-Entnahmeröhrchen (im Lieferumfang enthalten). Geben Sie 14–32 µl RNase-freies Wasser direkt in die Mitte der Spin-Säulen-Membran. Schließen Sie den Deckel vorsichtig und zentrifugieren Sie 1 min lang bei maximaler Drehzahl, um die RNA zu eluieren.

Die Elution in kleineren Volumen an RNase-freiem Wasser führt zu einer höheren Gesamt-RNA-Konzentration, aber einer niedrigeren RNA-Ausbeute.

Hinweis: Für die Elution bei erwartungsgemäß geringer RNA-Ausbeute wird für die Elution ein bindungsarmes Röhrchen (Low Bind) (nicht im Lieferumfang enthalten) empfohlen. Das mittlere Totvolumen der RNeasy MinElute Spin Column beträgt 2 µl: Elution mit 14 µl RNase-freiem Wasser ergibt etwa 12 µl Eluat.

23. Lagern Sie die RNA-Eluate bis zu 12 Wochen bei –60 bis –90 °C oder bei –15 bis –30 °C.

Hinweis: Die Eluatstabilität hängt von Inhalt und Art der isolierten RNA, dem Elutionsvolumen und den Lagerungsbedingungen ab. Wir empfehlen Anwendern, die Eluatstabilität unter Berücksichtigung ihrer spezifischen Anforderungen selbst zu ermitteln.

# Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagement-System von QIAGEN wird jede Charge des RNeasy DSP FFPE Kit zur Gewährleistung einer einheitlichen Produktqualität nach festgelegten Prüfkriterien getestet.

## Grenzen des Assays

Die Systemleistung wurde in Leistungsbewertungsstudien ermittelt, in denen humane RNA aus formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten Proben aufgereinigt wurde.

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, für jedes Verfahren, das im Labor des Anwenders durchgeführt wird und das nicht durch die Leistungsbewertungsstudien von QIAGEN abgedeckt ist, die Leistungscharakteristik des Systems selbst zu validieren.

Um das Risiko einer negativen Auswirkung auf die Ergebnisse der diagnostischen Tests zu minimieren, sollten in nachgelagerten Anwendungen geeignete Kontrollen mitgeführt werden.

Alle mit dem System erhaltenen diagnostischen Ergebnisse dürfen nur im Zusammenhang mit anderen klinischen und/oder labormedizinischen Untersuchungsergebnissen interpretiert werden.

# Leistungsmerkmale

Die geltenden Leistungsmerkmale sind unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) verfügbar.

# Entsorgung

Der Abfall besteht aus Proben und Reagenzien. In diesem Abfall können toxische oder infektiöse Probenmaterialien enthalten sein, die sachgerecht entsorgt werden müssen. Bitte beachten Sie bei der Entsorgung die geltenden Sicherheitsbestimmungen.

Weitere Informationen finden Sie in den jeweiligen Sicherheitsdatenblättern (Safety Data Sheets, SDS). Zu jedem QIAGEN-Kit und zu jeder Kitkomponente können Sie das jeweilige SDS im PDF-Format online unter [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) abrufen, einsehen und ausdrucken.

# Hilfe zur Fehlerbehebung

In diesem Abschnitt zur Fehlerbehebung finden Sie hilfreiche Informationen zur Behebung möglicher Probleme. Weitere Informationen finden Sie auch auf der Seite „Frequently Asked Questions“ (Häufig gestellte Fragen, FAQ) unseres TechniksUPPORT-Zentrums unter: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Darüber hinaus stehen die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler beim Technischen Service von QIAGEN Ihnen stets unterstützend zur Seite, falls Sie Fragen zu den Informationen und/oder Protokollen in diesem Handbuch oder den für die Proben und Assays verwendeten Methoden haben sollten (Kontaktinformationen siehe unter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Kommentare und Vorschläge

---

### Verstopfte RNeasy MinElute Spin Column

- |    |                                      |   |
|----|--------------------------------------|---|
| a) | Zu viel Ausgangsmaterial             | Reduzieren Sie die Menge des Ausgangsmaterials. Es ist von zentraler Bedeutung, dass die richtige Menge an Ausgangsmaterial verwendet wird (siehe Seite 15).  |
| b) | Zentrifugationstemperatur zu niedrig | Die Zentrifugationstemperatur sollte 15–25 °C betragen. Einige Zentrifugen können auch bei Einstellung auf 20 °C auf unter 15 °C abkühlen. Dies kann zur Bildung von Niederschlägen führen, welche möglicherweise die RNeasy MinElute Spin Column verstopfen. Stellen Sie in diesem Fall die Zentrifugationstemperatur auf 25 °C ein. |

---

### Zu niedrige RNA-Ausbeute

- |    |  |   |
|----|--|---|
| a) | Schlechte Qualität des Ausgangsmaterials | Proben, die länger als 24 Stunden fixiert oder über einen sehr langen Zeitraum gelagert wurden, enthalten ggf. sehr wenig verwendbare RNA. Schnitte, die auf Objektträger aufgezogen wurden, ergeben aufgrund längerer Luftfeinwirkung ggf. sehr wenig verwendbare RNA. |
| b) | Zu viel Ausgangsmaterial                 | Eine Überbeladung der RNeasy MinElute Spin Column führt zu einer signifikanten Verringerung der Nukleinsäure-Ausbeute. Reduzieren Sie die Menge des Ausgangsmaterials (siehe Seite 15).   |

## Kommentare und Vorschläge

---

- |    |  |   |
|----|--|---|
| c) | RNA noch an die Membran der RNeasy MinElute Spin Column gebunden | Wiederholen Sie die RNA-Elution, aber inkubieren Sie die RNeasy Min Elute Spin Column vor der Zentrifugation 10 Minuten lang auf dem Labortisch.  |
| d) | Falsche Lagerung von Puffern/Reagenzien                          | Die RNeasy MinElute Spin Columns sowie DNase I müssen direkt nach dem Empfang des Kits bei 2–8 °C gelagert werden. Überprüfen Sie die korrekte Lagerungstemperatur, da eine Exposition gegenüber höheren Temperaturen über längere Zeiträume zu einem Funktionsverlust führen kann. |
- 

## Niedriger $A_{260}/A_{280}$ -Wert

Zum Verdünnen der Nukleinsäure für die  $A_{260}/A_{280}$ -Messung wurde Wasser verwendet

Verwenden Sie 10 mM Tris-Cl, pH 7,5, und nicht Wasser, um die Probe vor der Reinheitsmessung zu verdünnen.

---

## DNA-Kontamination bei nachgelagerten Experimenten

- |    |  |  |
|----|--|--|
| a) | Zu viel Ausgangsmaterial                           | Bei einigen Gewebetypen kann die Effizienz der DNA-Entfernung bei Verarbeitung sehr hoher Mengen beeinträchtigt sein. Wenn die eluierte RNA eine erhebliche DNA-Kontamination enthält, versuchen Sie, pro Präparation weniger Gewebeschnitte zu verarbeiten.   |
| b) | Gewebe weist hohen DNA-Gehalt auf                  | Bei Verarbeitung sehr großer Mengen von DNA-reichem Gewebe (z. B. Thymus) wird die DNA möglicherweise nicht vollständig verdaut. Wiederholen Sie das Aufreinigungsverfahren mit weniger Gewebeschnitten. Überprüfen Sie, ob die DNase-I-Stammlösung korrekt gelagert wurde, wie unter „Lagerung und Handhabung der Reagenzien“ und „Vorbereitung der DNase-I-Stammlösung“ beschrieben. |
| c) | Reverse Transkription mit unzureichender RNA-Menge | Die meisten reversen Transkriptasen sind zur Verwendung mit etwa 1 µg RNA vorgesehen. Bei Durchführung einer reversen Transkription mit sehr geringen RNA-Mengen empfehlen wir die Verwendung einer reversen Transkriptase, die speziell für die hochsensitive reverse Transkription entwickelt wurde.   |
-

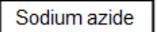
RNA erbringt bei nachgelagerten Assays/Anwendungen keine gute Leistung

- a) RNA wegen Formaldehyd-Modifikation fragmentiert oder blockiert
- Die Inkubation bei 80 °C im RNeasy DSP FFPE-Verfahren ist für eine optimale RNA-Leistung bei reverser Transkription und anderen enzymatischen nachgelagerten Anwendungen von entscheidender Bedeutung. Stellen Sie sicher, dass die Inkubationstemperatur während der gesamten 15-minütigen Inkubationszeit auf 80 °C gehalten wird.
- Obwohl bei der Inkubation bei 80 °C einige der Formaldehyd-Modifikationen entfernt werden, ist die aus FFPE-Schnitten aufgereinigte RNA kein optimales Template für enzymatische Reaktionen. Wir empfehlen, für die cDNA-Synthese nur Zufallsprimer oder genspezifische Primer zu verwenden. Wir empfehlen außerdem, die Amplifikate für die PCR so kurz wie möglich zu halten (< 500 Nukleotide).
- b) Verschleppung von Ethanol
- Zentrifugieren Sie beim zweiten Waschvorgang mit Buffer RPE 2 Minuten lang bei  $\geq 8.000 \times g$  und 15–25 °C, um die Membran der RNeasy MinElute Spin-Säule zu trocknen. Entnehmen Sie die Säule nach der Zentrifugation vorsichtig aus dem Entnahmeröhrchen und achten Sie darauf, dass die Säule nicht mit dem Durchfluss in Berührung kommt. Setzen Sie die Säule dann in ein neues Entnahmeröhrchen und zentrifugieren Sie 5 Minuten lang bei maximaler Drehzahl.
- c) Salzverschleppung bei der RNA-Elution
- Stellen Sie sicher, dass Buffer RPE durch Zugabe des korrekten Volumens Ethanol rekonstituiert wurde und dass der Puffer Raumtemperatur hat (15–25 °C).
- d) Reverse Transkription mit unzureichender RNA-Menge
- Die meisten reversen Transkriptasen sind zur Verwendung mit etwa 1 µg RNA vorgesehen. Bei Durchführung einer reversen Transkription mit sehr geringen RNA-Mengen empfehlen wir die Verwendung einer reversen Transkriptase, die speziell für die hochsensitive reverse Transkription entwickelt wurde.

# Symbole

Die folgenden Symbole werden in der Gebrauchsanweisung oder auf der Verpackung und Kennzeichnung verwendet:

Symbol	Bedeutung des Symbols
 $\Sigma$ <N>	Reagenzien ausreichend für <N> Reaktionen
	Verfallsdatum
	Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der europäischen Verordnung 2017/746 über In-vitro-Diagnostika.
	In-vitro-Diagnostikum
	Nach Lieferung
	DN
	RNeasy MinElute Spin
	Katalognummer
	Chargennummer
	Materialnummer (d. h. Kennzeichnung von Komponenten)
	Komponenten (d. h. eine Inhaltsliste)

Symbol	Bedeutung des Symbols
	Inhalt
	Anzahl (d. h. Gefäße, Flaschen)
	Internationale Artikelnummer
Rn	R = Revision der Gebrauchsanleitung (Handbuch); n = Revisionsnummer
	Zulässiger Temperaturbereich
	Hersteller
	Gebrauchsanweisung beachten
	Vorsicht
	Proteinase K
	Natriumazid
	Unique Device Identifier (eindeutige Gerätekenung)

# Kontakt

Technische Hinweise und weitere Informationen finden Sie in unserem technischen Support-Center unter [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support). Telefonisch erreichen Sie uns unter der Rufnummer 00800-22-44-6000, oder wenden Sie sich an eine der Abteilungen des Technischen Service von QIAGEN oder an örtliche Händler (siehe hintere Umschlagseite oder [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

# Anhang: Allgemeine Hinweise zur Handhabung von RNA

## Handhabung von RNA

Ribonukleasen (RNasen) sind sehr stabile und aktive Enzyme, die üblicherweise keine Cofaktoren für ihre Funktion benötigen. Da RNasen nur schwer zu inaktivieren sind und schon geringe Mengen ausreichen, um RNA zu degradieren, dürfen Kunststoff- oder Glas-Laborartikel nur verwendet werden, wenn mögliche RNase-Kontaminationen beseitigt wurden. Es ist darauf zu achten, dass während des Aufreinigungsverfahrens und danach nicht unbeabsichtigt RNasen in die RNA-Probe eingeschleppt werden. Um ein RNase-freies Umfeld zu schaffen und zu erhalten, müssen beim Arbeiten mit RNA bei der Vorbehandlung und Verwendung von Einweg- und Mehrwegbehältnissen sowie Lösungen die folgenden Vorsichtsmaßnahmen ergriffen werden.

## Allgemeine Handhabung

Beim Arbeiten mit RNA sollten immer angemessene mikrobiologische, aseptische Arbeitsweisen verwendet werden. An Händen und Staubpartikeln können Bakterien und Schimmelpilze haften; sie sind die häufigste Quelle von RNase-Kontaminationen. Tragen Sie daher immer Latex- oder Vinylhandschuhe, wenn Sie mit Reagenzien oder RNA-Proben arbeiten, um eine RNase-Kontamination über die Hautoberfläche oder durch staubige Laborgeräte zu vermeiden. Wechseln Sie die Einmal-Handschuhe häufig und halten Sie Röhrchen möglichst immer verschlossen. Bewahren Sie die aufgereinigte RNA auf Eis auf, während Sie Aliquote für nachfolgende Anwendungen pipettieren.

Zur Entfernung von RNase-Kontaminationen von Tischoberflächen, Mehrweg-Verbrauchsartikeln aus Kunststoff und Laborgeräten (z. B. Pipetten und Elektrophoresekammern) wird die Verwendung von RNaseZap® (Kat.-Nr. AM9780) von Ambion® empfohlen. Eine RNase-Kontamination kann alternativ mit allgemeinen Laborreagenzien entfernt werden. Spülen Sie Kunststoffartikel zur Dekontamination mit 0,1 M NaOH, 1 mM EDTA und anschließend mit RNase-freiem Wasser (siehe „Lösungen“ auf Seite 34). Ist der Kunststoffartikel chloroformbeständig, spülen Sie alternativ mit Chloroform. Reinigen Sie die Elektrophoresekammern zur Dekontamination mit Detergens (z. B. 0,5 % SDS), spülen Sie sie mit RNase-freiem Wasser, spülen Sie sie mit Ethanol (wenn die Kammern ethanolbeständig sind) und lassen Sie sie trocknen.

## Einweg-Kunststoffartikel

Für das gesamte Verfahren wird die Verwendung steriler Einwegröhrchen aus Polypropylen empfohlen. Diese Röhrchen sind in der Regel RNase-frei und erfordern keine Vorbehandlung zur Inaktivierung von RNasen.

## Glasartikel

Glasartikel sind vor der Verwendung zu behandeln, um sicherzustellen, dass sie RNase-frei sind. Glasartikel, die für Arbeiten mit RNA eingesetzt werden sollen, sind vor der Verwendung mit einem Detergens zu reinigen, sorgfältig abzuspülen und im Ofen mindestens 4 Stunden (falls gewünscht auch über Nacht) bei 240 °C zu backen. Eine Autoklavierung allein reicht bei vielen RNasen nicht zur Inaktivierung aus. Alternativ können Glasartikel mit DEPC (Diethylpyrocarbonat) behandelt werden, wie im folgenden Abschnitt „Lösungen“ beschrieben.

## Lösungen

Lösungen (Wasser und andere Lösungen) sind mit 0,1 % DEPC zu behandeln. DEPC ist ein starker, aber kein absoluter RNase-Inhibitor. Es wird häufig in einer Konzentration von 0,1 % eingesetzt, um RNasen auf Glas- oder Kunststoffartikeln zu inaktivieren oder RNase-freie Lösungen und RNase-freies Wasser herzustellen. DEPC inaktiviert RNasen durch kovalente Modifikation. Geben Sie 0,1 ml DEPC in 100 ml der zu behandelnden Lösung und schütteln Sie gründlich, um das DEPC aufzulösen. Inkubieren Sie die Lösung 12 Stunden lang bei 37 °C. Autoklavieren Sie 15 Minuten lang, um alle Rückstände von DEPC zu entfernen. Da DEPC mit primären Aminen reagiert, kann es nicht direkt zur Behandlung von Tris-Puffern verwendet werden. DEPC ist in Gegenwart von Tris-Puffern hochgradig instabil und zerfällt dann rasch zu Ethanol und CO<sub>2</sub>. Behandeln Sie bei der Vorbereitung von Tris-Puffern zunächst das Wasser mit DEPC und lösen Sie dann darin Tris, um den entsprechenden Puffer herzustellen. Rückstände von DEPC führen zu Modifikationen an Purinresten in RNA durch Carbethoxylierung. Carbethoxylierte RNA wird in zellfreien Systemen mit sehr niedriger Effizienz translatiert. Ihre Fähigkeit zur Bildung von DNA:RNA- oder RNA:RNA-Hybriden wird dadurch jedoch nicht wesentlich beeinträchtigt, es sei denn, ein großer Anteil der Purinreste wurde modifiziert. Rückstände von DEPC müssen stets durch 15-minütiges Autoklavieren oder Erhitzen auf 100 °C aus Lösungen oder Gefäßen eliminiert werden.

Hinweis: Die RNeasy-Puffer sind garantiert RNase-frei ohne DEPC-Behandlung und daher frei von DEPC-Kontaminationen.

# Bestellinformationen

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
RNeasy DSP FFPE Kit (50)	50 RNeasy MinElute Spin Columns, Elutionsröhrchen, Waschröhrchen, Lyseröhrchen, RNase-freie Reagenzien und Puffer	73604

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Haftungsausschlüsse finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit-Handbuch oder Benutzerhandbuch. QIAGEN Kit-Handbücher und Benutzerhandbücher sind unter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) verfügbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder Ihrem örtlichen Händler angefordert werden.

# Bearbeitungshistorie des Dokuments

## Revision

## Beschreibung

R1, Juni 2022

Aktualisierung auf Kit-Version 2 zur Einhaltung der IVDR-Richtlinie.

Keine Änderungen an den Protokollen oder der Leistung gegenüber Kit-Version 1

Aktualisierung der Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen (Hinzufügung von Restrisiken, Notfallinformationen)

Hinzufügung des Abschnitts „Entsorgung“

### Eingeschränkte Nutzungsvereinbarung für das RNeasy DSP FFPE Kit

Mit der Verwendung dieses Produkts erkennen Käufer oder Benutzer des Produkts die folgenden Bedingungen an:

1. Das Produkt darf nur gemäß den mit dem Produkt und diesem Handbuch bereitgestellten Protokollen und nur mit den Komponenten, die im Kit mitgeliefert werden, verwendet werden. QIAGEN gewährt im Rahmen ihrer Eigentumsrechte keinerlei Lizenz, Kit-Komponenten zusammen mit anderen Komponenten (die nicht zu diesem Kit gehören) zu verwenden, mit Ausnahme der Anwendungen, die in den mit dem Produkt und diesem Handbuch bereitgestellten Protokollen oder in zusätzlichen, unter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) verfügbaren Protokollen beschrieben werden. Einige dieser zusätzlichen Protokolle wurden von QIAGEN Benutzern für andere QIAGEN Benutzer zur Verfügung gestellt. Diese Protokolle wurden von QIAGEN nicht eingehend geprüft oder optimiert. QIAGEN übernimmt für diese Protokolle keine Garantie und garantiert auch nicht, dass sie keine Rechte Dritter verletzen.
1. Über die ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen hinaus übernimmt QIAGEN keinerlei Garantie dafür, dass dieses Kit und/oder die mit diesem Kit durchgeführten Anwendungen die Rechte Dritter nicht verletzen.
2. Dieses Kit und seine Komponenten sind für den einmaligen Gebrauch lizenziert und dürfen nicht wiederverwendet, aufgearbeitet oder weiterverkauft werden.
3. QIAGEN lehnt außer der ausdrücklich gewährten Lizenzgewährung jede weitere Lizenzgewährung ab, sowohl ausdrücklich als auch konkludent.
4. Käufer und Nutzer des Kits stimmen zu, keinerlei Schritte zu unternehmen oder anderen die Einleitung von Schritten zu gestatten die zu unerlaubten Handlungen im obigen Sinne führen oder solche erleichtern könnten. QIAGEN kann die Verbote dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung an jedem Ort gerichtlich geltend machen und wird sämtliche Ermittlungs- und Gerichtskosten, inklusive Anwaltsgebühren, zurückfordern, die ihr bei der Geltendmachung dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung oder irgendeines ihrer geistigen Eigentumsrechte im Zusammenhang mit dem Kit und/oder seinen Komponenten entstehen.

Aktualisierte Nutzungs- und Lizenzbedingungen finden Sie unter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Marken: QIAGEN®, Sample to Insight®, MinElute®, RNeasy® (QIAGEN-Gruppe); Ambion®, RNaseZap® (Thermo Fisher Scientific oder Tochtergesellschaften).  
Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt.  
06/2022 HB-3027-001 1127532DE © 2022 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

