

Januar 2020

# PAXgene<sup>®</sup> Blood RNA Kit-håndbok

Versjon 2



50 (katalognr. 762174)

R3 **MAT** 1120409NO

**REF**

762174



PreAnalytiX GmbH  
Feldbachstrasse, CH-8634 Hombrechtikon  
Produsert av QIAGEN GmbH for PreAnalytiX

 **PreAnalytiX**

A QIAGEN / BD Company

Varemerker: PAXgene®, PreAnalytiX™ (PreAnalytiX GmbH); QIAGEN®, QIAcube® (QIAGEN-gruppen); BD Vacutainer®, BD Hemogard™, Safety-Lok™ (Becton, Dickinson and Company); Eppendorf® (Eppendorf AG).

PAXgene Blood RNA Kit er ikke tilgjengelig i alle land. Vennligst forhør deg.

#### Begrenset lisensavtale

Bruk av dette produktet innebærer at en kjøper eller bruker av PAXgene Blood RNA Kit samtykker i følgende vilkår:

1. PAXgene Blood RNA Kit kan brukes bare i samsvar med *håndboken for PAXgene Blood RNA Kit* og kun til bruk med komponenter som er i kitet. PreAnalytiX gir ingen lisens for noen av sine åndsprodukter til å bruke eller innlemme vedlagte komponenter i dette kitet med noen komponenter som ikke er inkludert i dette kitet, med unntak av det som er beskrevet i *håndboken for PAXgene Blood RNA Kit* og flere protokoller som nå finnes på [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com).
2. PreAnalytiX gjør ingen garantier for at dette kitet og/eller bruksområdene ikke krenker rettighetene til tredjeparter bortsett fra tydelig uttrykte lisenser.
3. Dette kitet og tilhørende komponenter er lisensiert til engangsbruk og kan ikke brukes flere ganger, modifiseres eller selges på nytt.
4. PreAnalytiX frasier seg spesifikt andre lisenser, uttrykt eller antydning, bortsett fra det som er uttrykkelig oppgitt.
5. Kjøperen og brukeren av kitet samtykker i ikke å gjøre eller la noen andre gjøre noe som kan føre til eller tilrettelegge for handlinger som er forbudt ovenfor.
6. PreAnalytiX kan håndheve forbudene i denne begrensede lisensavtalen i en hvilken som helst domstol, og skal refunderes alle sine etterforsknings- og domstolskostnader, inkludert advokatonorarer, i enhver sak som reises for å håndheve denne begrensede lisensavtalen eller hvilke som helst av selskapets immaterielle rettigheter knyttet til kitet og/eller dets komponenter.

Oppdaterte lisensvilkår er tilgjengelige på [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com).

#### Betinget salg

Det aktuelle produktet kommer med en lisens under visse krav av US-7,270,953, og US-7,682,790, samt EP-1820793 B1 og ekvivalenter til disse patentkravene i andre land, for bruk av produktet til å prosessere nukleinsyrekomplekset dannet under prøvetaking i PAXgene Blood RNA Tube.

HB-0101-006 BD-8945 1120409 © 2005–2020 PreAnalytiX GmbH, med enerett.

PreAnalytiX Company

PreAnalytiX GmbH

Feldbachstrasse

CH – 8634 Hombrechtikon

Sveits

[www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com)

#### Forhandlere for PreAnalytiX

PreAnalytiX-produkter er produsert for PreAnalytiX av QIAGEN eller BD og distribueres for PreAnalytiX av QIAGEN eller BD. Produkter kan ikke bestilles fra PreAnalytiX GmbH.

Se siste side for kontaktinformasjon for din lokale PreAnalytiX-forhandler.

# Innhold

Kitets innhold .....	5
Symboler .....	7
Oppbevaringsbetingelser.....	8
Tiltenkt bruk.....	9
Begrenset bruk av produktet .....	9
Kvalitetskontroll.....	10
Teknisk assistanse .....	10
Sikkerhetsinformasjon .....	10
Introduksjon .....	13
Prinsipp og prosedyre .....	13
Prøveinnsamling og stabilisering.....	13
RNA-konsentrasjon og rensing .....	19
Manuell RNA-rensing .....	19
Automatisk RNA-rensing .....	29
Utstyr og reagenser som brukeren må sørge for.....	35
Viktige merknader.....	37
Bruke QIAcube.....	37
Starte QIAcube .....	37
Installere protokoller på QIAcube .....	37
Laste QIAcube.....	39
Protokoll: Manuell rensing av totalt RNA fra humant fullblod samlet i PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) .....	48

Protokoll: Automatisk rensing av totalt RNA fra humant fullblod samlet i PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) .....	55
Feilsøkingsveiledning.....	62
Vedlegg A: Generelle kommentarer om håndtering av RNA .....	64
Vedlegg B: Kvantifisering og bestemmelse av kvalitet for totalt RNA.....	65
Vedlegg C: Håndtere PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) .....	66
Bestillingsinformasjon .....	68
Endringshistorikk for håndbok .....	70


# Kitets innhold

<b>PAXgene Blood RNA Kit</b>			<b>(50)</b>
<b>Katalognr.</b>			<b>762174</b>
<b>Antall klargjøringer</b>			<b>50</b>
BR1	Resuspension Buffer (Resuspensjonsbuffer)	RES BUF	20 ml
BR2	Binding Buffer (Bindende buffer) *	BIND BUF	18 ml
BR3	Wash Buffer 1 (Vaskebuffer 1) *	WASH BUF 1	45 ml
BR4	Wash Buffer 2 (concentrate) (Vaskebuffer 2 (konsentrat)) †	WASH BUF 2 CONC	11 ml
BR5	Elution Buffer (Elueringsbuffer)	ELU BUF	6 ml
RNFW	RNase-free Water (bottle) (RNase- fritt vann (flaske))	PEL WASH	2 × 125 ml
PK	Proteinase K (green lid) (Proteinase K (grønt lokk))	PROTK	2 × 1,4 ml
PRC	PAXgene RNA Spin Columns (red) (PAXgene RNA spinn-søyler (rød))	PAXgene RNA COL	5 × 10
PT	Processing Tubes (2 ml) (Reagensrør (2 ml))	PROC TUBE	6 × 50
Hemogard	Secondary BD Hemogard™ Closures (Sekundære BD Hemogard™-hetter)	SEC CLOS	50
MCT	Microcentrifuge Tubes (1.5 ml) (Mikrosentrifugerør (1,5 ml))	MIC TUBE	3 × 50, 1 × 10
RNFD	DNase I, RNase-free (lyophilized) (DNase I, RNase-fritt (lyofilisert))	DNA REM	1500 Kunitz-enheter‡

\*Ikke kompatibel med desinfiseringsreagenser som inneholder blekemiddel. Inneholder et guanadinsalt. Se side 10 for sikkerhetsinformasjon.

† Vaskebuffer 2 (BR4) leveres som konsentrat. Før førstegangsbruk tilsettes 4 volumer etanol (96–100 %, renhetsgrad p.a.) som vist på flasken, for å oppnå en arbeidsløsning.

‡ Kunitz-enheter er enhetene som vanligvis brukes til å måle DNase I, definert som mengden av DNase I som fører til en økning i  $A_{260}$  på 0,001 per minutt per milliliter ved 25 °C, pH 5,0, med sterkt polymerisert DNA som substrat (Kunitz, M. (1950) J. Gen. Physiol. **33**, 349 og 363).

<b>PAXgene Blood RNA Kit</b>			<b>(50)</b>
<b>Katalognr.</b>			<b>762174</b>
<b>Antall klargjøringer</b>			<b>50</b>
RDD	DNA Digestion Buffer (white lid) (DNA-nedbrytningsbuffer (hvitt lokk))	<b>DNA</b> <b>DIG</b> <b>BUF</b>	2 × 2 ml
DRB	DNase Resuspension Buffer (tube, lilac lid) (DNase-resuspensjonsbuffer (rør, lilla lokk))	<b>DNase</b> <b>RES</b> <b>BUF</b>	2 ml
PSC	PAXgene Shredder Spin Columns (lilac) (PAXgene Shredder spinn-søyler (lilla))	<b>PAXgene</b> <b>SHRED</b> <b>COL</b>	5 × 10
Håndbok	Håndbok for PAXgene Blood RNA Kit (versjon 2)		1

# Symboler



Inneholder reagenser som er tilstrekkelig til <N> tester



Se bruksanvisningen



Brukes innen



Medisinsk utstyr for in vitro-diagnostikk



Katalognummer



Partinummer



Materialnummer



Komponenter



Nummer



Sterilisert ved stråling



Kunitz-enheter



Tilsetter



Inneholder














Rekonstituert



Deoksyribonuklease I



Etanol

	Guanidinisotiocyanat
	RNase-Free DNase Set
	Globalt artikkelnummer
	Ikke til gjenbruk
	Temperaturbegrensning
	Øvre temperaturgrense
	Produsent
	Viktig merknad
	Skriv ned dagens dato etter at du har tilsatt etanol i flasken
	Ved ankomst
	Fører til

## Oppbevaringsbetingelser

PAXgene RNA spinn-søyler (PRC), PAXgene Shredder spinn-søyler (PSC), proteinase K (PK) og buffere (BR1, BR2, BR3, BR4 og BR5) kan oppbevares tørt ved temperaturen som står på etiketten på kitet.

RNase-Free DNase Set som inneholder DNase I (RNFD), DNA-nedbrytningsbuffer (RDD) og DNase-resuspensjonsbuffer (DRB), fraktes ved omgivelsestemperatur. Oppbevar alle



komponenter av RNase-Free DNase Set straks ved mottak ved temperaturen som står på etiketten. Forutsatt riktig oppbevaring er kitet stabilt frem til utløpsdatoen på esken.

## Tiltenkt bruk

PAXgene Blood RNA Kit er for rensing av intracellulært RNA fra fullblod samlet i PAXgene Blood RNA Tube (BRT). Når kitet brukes sammen med PAXgene Blood RNA Tube (BRT), gir systemet rensed intracellulært RNA fra fullblod for RT-PCR brukt i molekylær diagnostikk. Se *håndboken for PAXgene Blood RNA Tube* (PAXgene Blood RNA Tube Handbook) for informasjon om bruken av PAXgene Blood RNA Tubes (BRT).

**Ytelseskarakteristikker for PAXgene Blood RNA System er kun etablert med FOS- og IL1B-gentranskripter. Brukeren er ansvarlig for å etablere ytelseskarakteristikker for PAXgene Blood RNA System som egner seg for andre måltranskripter.**

## Begrenset bruk av produktet

PAXgene Blood RNA Kit er beregnet på rensing av intracellulært RNA fra humant fullblod ( $4,8 \times 10^6 - 1,1 \times 10^7$  leukocytter/ml) for in vitro-diagnostiske applikasjoner. Det er ikke for rensing av genomisk DNA eller virusnukleinsyrer fra humant fullblod. På grunn av det begrensede antallet transkripter som er validert for stabiliseringsspesifikasjoner (FOS- og IL1B-gentranskripter), er ikke ytelseskarakteristikkene etablert for alle transkripter. Laboratoriepersonale skal gjennomgå produsentens data og egne data for å avgjøre om validering er nødvendig for andre transkripter.

Dette produktet skal brukes av fagpersoner, for eksempel teknikere og leger som har fått opplæring i in vitro-diagnostiske prosedyrer.

# Kvalitetskontroll

I henhold til QIAGENs ISO-sertifiserte kvalitetsstyringssystem testes hvert parti med PAXgene Blood RNA Kit mot forhåndsbestemte spesifikasjoner for å sikre konsekvent produktkvalitet.

# Teknisk assistanse

Hos QIAGEN er vi stolte av kvaliteten på og tilgjengeligheten av vår tekniske støtte. Våre tekniske serviceavdelinger er bemannet av erfarne vitenskapsfolk med omfattende praktisk og teoretisk ekspertise i molekylær biologi og bruken av PreAnalytiX-produkter. Hvis du har spørsmål om PAXgene Blood RNA Kit, må du gjerne ta kontakt med oss.

For teknisk assistanse og mer informasjon, ta kontakt med QIAGEN tekniske tjenester.

# Sikkerhetsinformasjon

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier.

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller for å unngå risiko for infeksjon (f.eks. HIV- eller hepatitt B-virus) eller skade ved arbeid med biologiske og kjemiske materialer. Se gjeldende sikkerhetsdatablader (SDS) hvis du ønsker mer informasjon. Disse er tilgjengelige på nettet i praktisk og kompakt PDF-format på **[www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com)**. Her kan du se, vise og skrive ut SDS-er for dette kitet.

**FORSIKTIG**



IKKE tilsett blekemidler eller sure løsninger direkte i prøvepreparatavfallet.

Bindende buffer (BR2) og vaskebuffer 1 (BR3) inneholder guanidintiocyanat, som kan danne sterkt reaktive forbindelser når det kommer i kontakt med blekemiddel. Hvis bindende buffer (BR2) eller vaskebuffer 1 (BR3) søles, rengjør med egnet laboratorierengjøringsmiddel og vann. Hvis det søles væske som inneholder potensielt smittefarlige midler, må det berørte området først rengjøres med laboratorierengjøringsmiddel og vann, deretter med 1 % (vol./vol.) natriumhypokloritt.

Den RNA-stabiliserende løsningen og blodblandingen fra PAXgene Blood RNA Tube (BRT) kan desinfiseres med 1 volum kommersiell blekemiddelløsning (5 % natriumhypokloritt) per 9 volumer RNA-stabiliserende løsning og blodblanding.

Prøvepreparatavfall, f.eks. supernatanter, fra sentrifugeringstrinn i RNA-renseprosedyren, er å anse som potensielt smittsomt. Før kasting må avfallet autoklaveres eller forbrennes for å ødelegge smittefarlig materiale. Avfallsbehandlingen må skje i henhold til offisielle forskrifter.

Følgende risiko- og sikkerhetssetninger gjelder for komponenter i PAXgene Blood RNA Kit. Se *håndboken for PAXgene Blood RNA Tube* for sikkerhetsinformasjon om bruken av PAXgene Blood RNA Tubes (BRT).

## Buffer BR2



Inneholder guanidintiocyanat. Fare! Skadelig ved svelging. Kan være farlig ved hudkontakt eller innånding. Gir alvorlig øyeskade. Skadelig, med langtidsvirkning, for vannlevende organismer. Ved kontakt med syrer utvikles meget giftig gass. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm. VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. Ta kontakt med GIFTINFORMASJONEN eller lege umiddelbart.

### Buffer BR3



Inneholder: etanol; guanidintiocyanat. Fare! Brannfarlig væske og damp. Gir alvorlig øyeskade. Ved kontakt med syrer utvikles meget giftig gass. Holdes vekk fra varme/gnister/åpen flamme/varme overflater. Røyking forbudt. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm. VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. Ta kontakt med GIFTINFORMASJONEN eller lege umiddelbart.

### DNase I



Inneholder: DNase. Fare! Kan utløse en allergisk hudreaksjon. Kan gi allergi eller astmasymptomer eller pustevansker ved innånding. Unngå å puste inn støv/avgasser/gass/tåke/damper/spray. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm. Benytt åndedrettsvern. Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Ta kontakt med GIFTINFORMASJONEN eller lege. Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende hviler i en stilling som letter åndedrettet.

### Proteinase K



Inneholder: proteinase K. Fare! Forårsaker mild hudirritasjon. Kan gi allergi eller astmasymptomer eller pustevansker ved innånding. Unngå å puste inn støv/avgasser/gass/tåke/damper/spray. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm. Benytt åndedrettsvern. Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Ta kontakt med GIFTINFORMASJONEN eller lege. Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende hviler i en stilling som letter åndedrettet.

# Introduksjon

Innsamling av fullblod er det første trinnet i mange molekylære analyser som brukes til å studere cellulært RNA. Et sentralt problem i slike eksperimenter er imidlertid ustabiliteten til profilen av cellulært RNA in vitro. Studier ved PreAnalytiX har vist at kopitallene på individuelle mRNA-arter i fullblod kan endres mer enn 1000 ganger under oppbevaring eller transport ved romtemperatur.\* Dette forårsakes både av hurtig RNA-degradering og av induisert uttrykk for visse gener etter at blod er innsamlet. Slike endringer i RNA-uttryksprofilen gjør det umulig med pålitelige studier av genuttrykk. En metode som konserverer RNA-uttryksprofilen under og etter prøvetaking, er derfor avgjørende for riktig analyse av genuttrykk i humant fullblod.

## Prinsipp og prosedyre

PreAnalytiX har utviklet et nytt system for å samle, stabilisere, lagre og transportere prøver av humant fullblod, sammen med en hurtig og effektiv protokoll for rensing av intracellulært RNA. Systemet krever bruk av PAXgene Blood RNA Tubes (BRT; amerikanske patenter 6,602,718 og 6,617,170) for innsamling av blod og RNA-stabilisering, etterfulgt av manuell eller automatisk rensing av RNA med PAXgene Blood RNA Kit. Både manuelle og automatiserte protokoller gir i det vesentlige lik ytelse når det gjelder RNA-kvalitet og -utbytte. Ytelsesdata for den manuelle protokollen (side 22–29) og den automatiske protokollen (side 32–34) er inkludert i denne håndboken.

## Prøveinnsamling og stabilisering

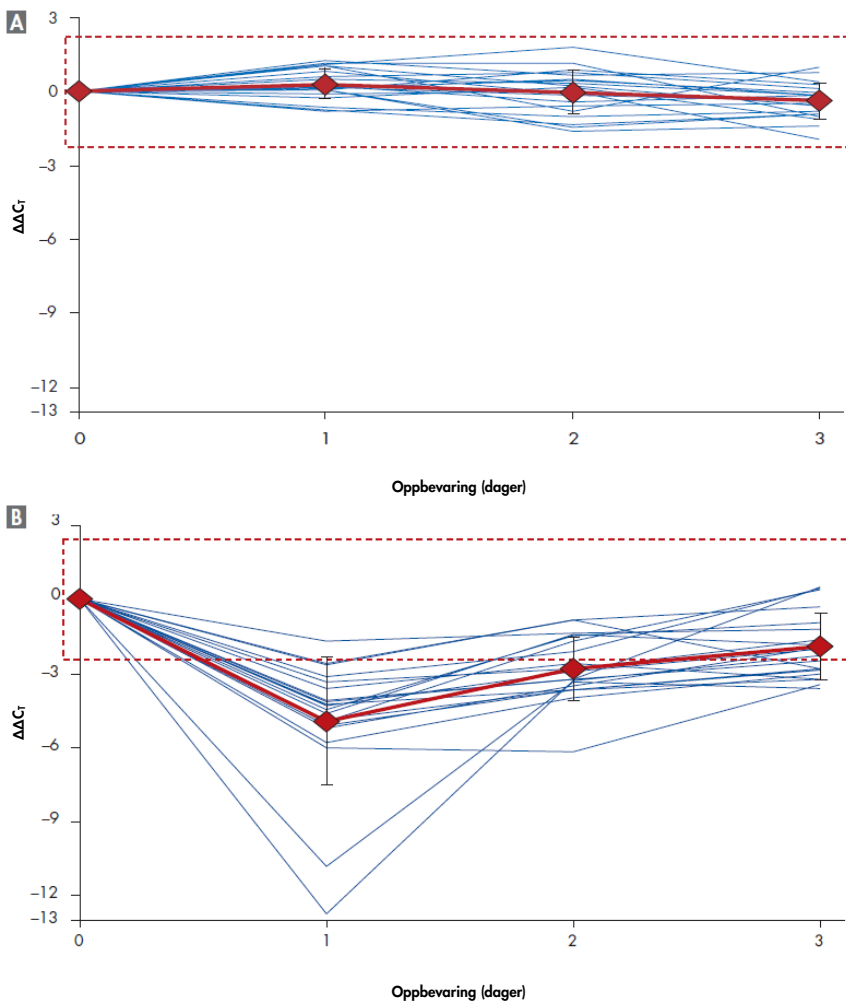
PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) inneholder en egen reagensforbindelse basert på en patentert RNA-stabiliseringsteknologi. Denne reagensforbindelsen beskytter RNA-molekyler mot degradering av RNaser og minimerer ex vivo-endringer i genuttrykk. PAXgene Blood

\* Rainen, L. et al. (2002) Stabilization of mRNA expression in whole blood samples. Clin. Chem. **48**, 1883.

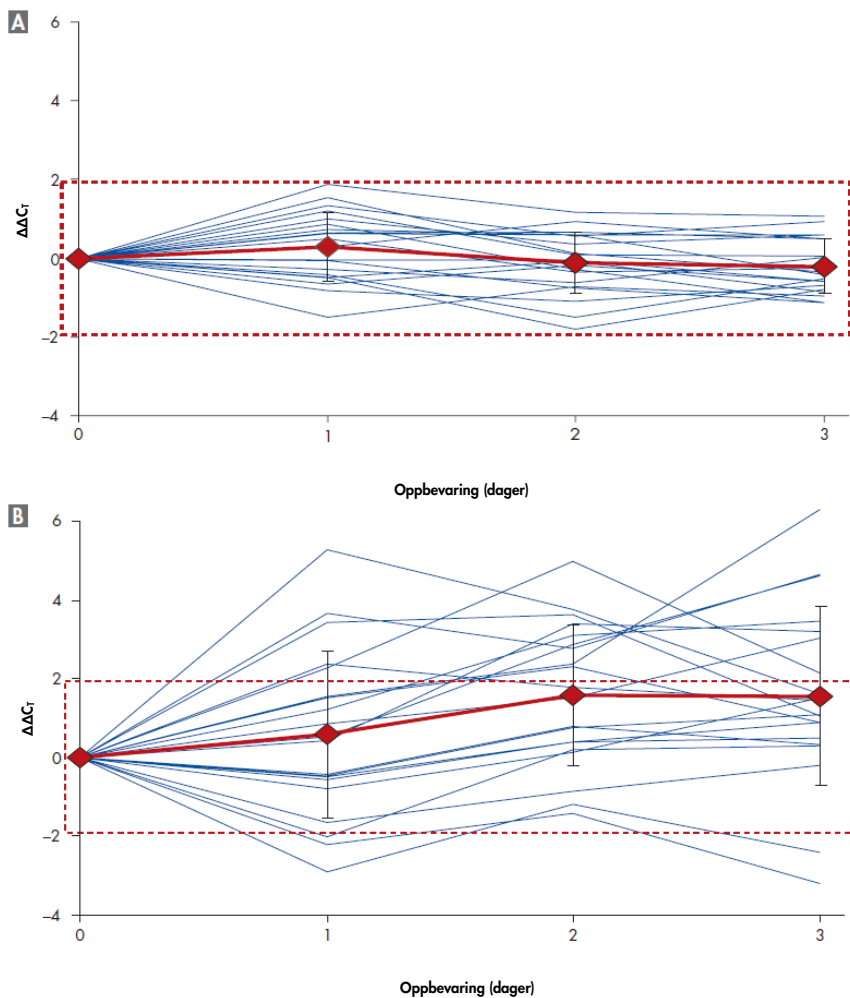
RNA Tubes (BRT) er beregnet på å samle humant fullblod og stabilisere cellulært RNA i opptil 3 dager ved 18–25 °C (figur 1 og 2, side 15 og 16) eller opptil 5 dager ved 2–8 °C (figur 3 og 4, side 17 og 18). Data som nå er tilgjengelige, viser stabilisering av cellulært RNA i minst 11 år ved –20 °C eller –70 °C\*. For mer informasjon fra pågående studier som evaluerer stabilitet over lengre tidsperioder, ta kontakt med QIAGEN teknisk service.

Den faktiske varigheten av RNA-stabilisering kan variere avhengig av arten med cellulært RNA og nedstrømsapplikasjonen som brukes. På grunn av det begrensede antallet transkripter som er validert for stabiliseringsspesifikasjoner (FOS- og IL1B-gentranskripter), er ikke ytelseskarakteristikkene etablert for alle transkripter. Laboratoriepersonale skal gjennomgå produsentens data og egne data for å avgjøre om validering er nødvendig for andre transkripter.

\* Det pågår en langsiktig studie av blodlagring i PAXgene Blood RNA Tubes.

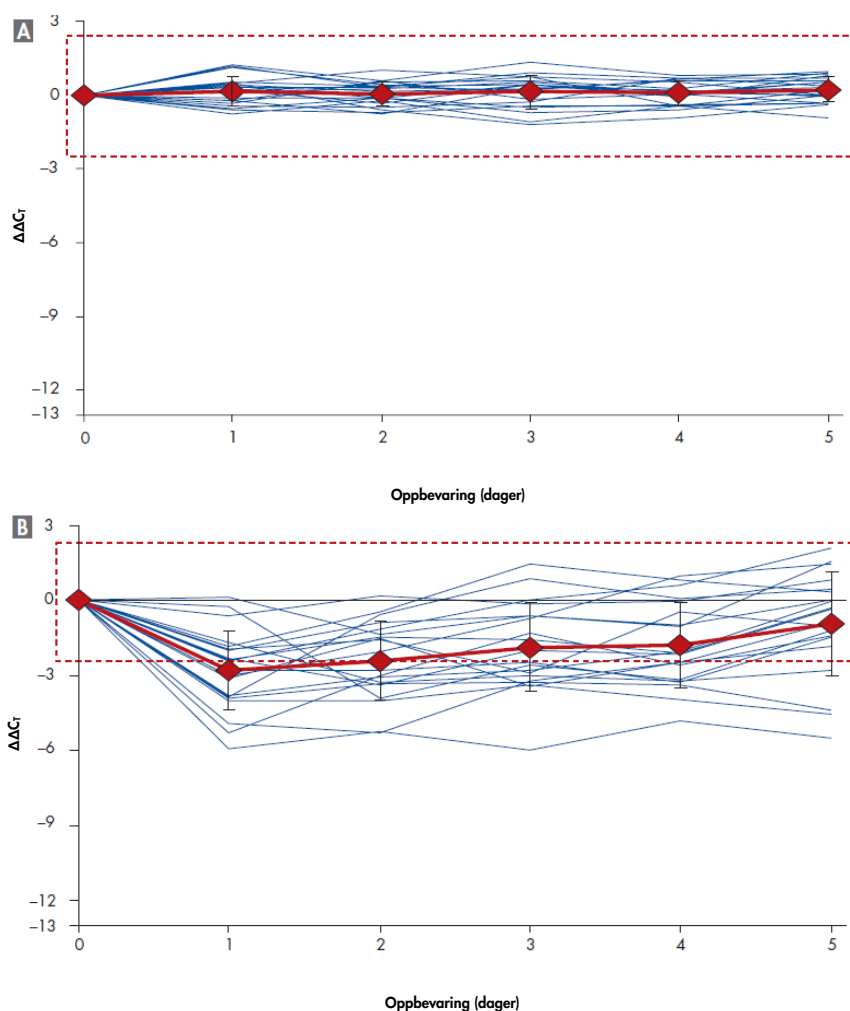


**Figur 1. RNA-stabilitet i blodprøver ved 18–25 °C: FOS.** Blod ble tatt fra 10 donorer med duplikate prøver og oppbevart ved 18–25 °C i det oppgitte antallet dager, etterfulgt av total RNA-rensing. **[A]** Blod ble samlet og lagret i PAXgene Blood RNA Tubes (BRT), og totalt RNA ble renset med PAXgene Blood RNA Kit. **[B]** Blod ble samlet og lagret i standard blodinnsamlingsrør med EDTA som antikoagulant, og totalt RNA ble renset med standard organisk ekstraksjonsmetode med silikamembranbasert RNA-rengjøring. Relative transkriptnivåer av FOS ble bestemt i sanntid, dupleks RT-PCR, med 18S rRNA som intern standard. Verdiene for alle prøver er plottet med middelværdier og standardavvik for alle prøver som vises. De stiplede linjene viser  $\pm 3\times$  total presisjon for analysen (2,34  $C_t$ ).

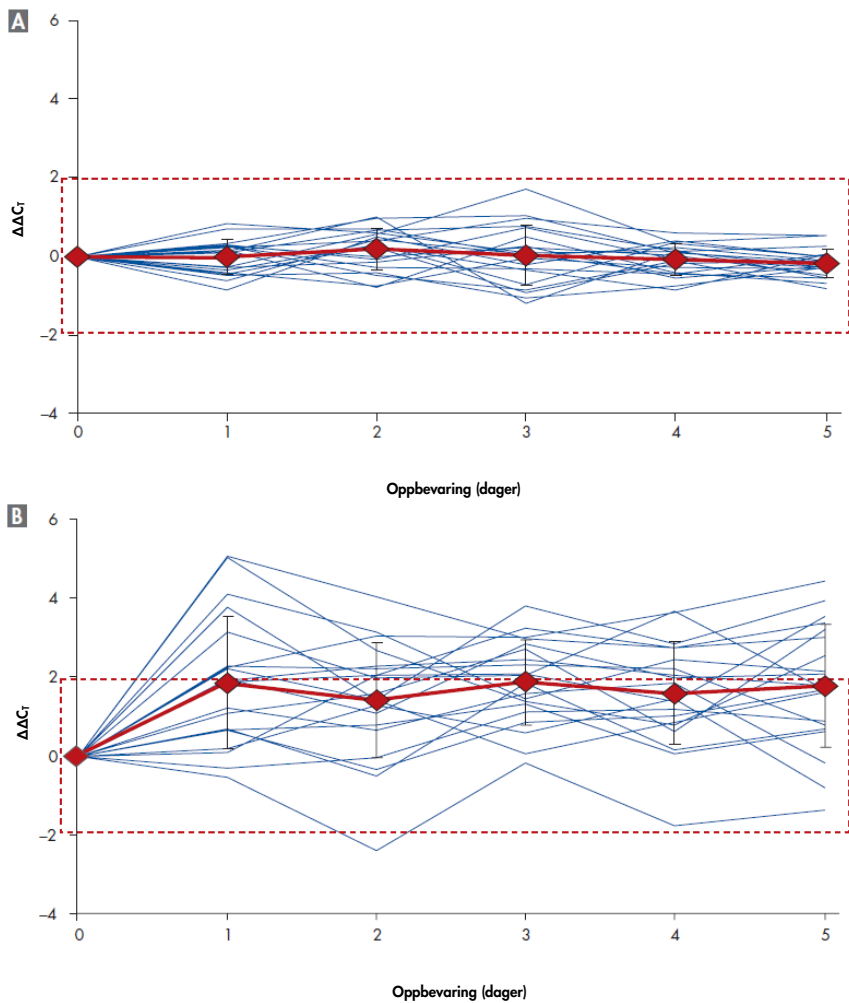


**Figur 2. RNA-stabilitet i blodprøver ved 18–25 °C: IL1B.** Blod ble samlet og totalt RNA renset etter oppbevaring ved 18–25 °C, som beskrevet i figur 1. Relative transkriptnivåer av IL1B ble bestemt i sanntid, dupleks RT-PCR, med 18S rRNA som intern standard. Verdiene for alle prøver er plottet med middelerddier og standardavvik for alle prøver som vises. De stiplede linjene viser  $\pm 3\times$  total presisjon for analysen (1,93  $C_T$ ).





**Figur 3. RNA-stabilitet i blodprøver ved 2-8°C: FOS.** Blod ble tatt fra 10 donorer med duplikate prøver og oppbevart ved 2-8°C i det oppgitte antallet dager, etterfulgt av total RNA-rensing. **[A]** Blod ble samlet og lagret i PAXgene Blood RNA Tubes (BRT), og totalt RNA ble renseset med PAXgene Blood RNA Kit. **[B]** Blod ble samlet og lagret i standard blodinnsamlingsrør med EDTA som antikoagulant, og totalt RNA ble renseset med standard organisk ekstraksjonsmetode med silikamembranbasert RNA-rengjøring. Relative transkriptnivåer av FOS ble bestemt i sanntid, dupleks RT-PCR, med 18S rRNA som intern standard. Verdiene for alle prøver er plottet med middelverdier og standardavvik for alle prøver som vises. De stiplede linjene viser  $\pm 3\times$  total presisjon for analysen (2,34  $C_t$ ).



**Figur 4. RNA-stabilitet i blodprøver ved 2-8°C: IL1B.** Blod ble samlet og totalt RNA rensset etter oppbevaring ved 2-8°C, som beskrevet i figur 3. Relative transkriptnivåer av IL1B ble bestemt i sanntid, dupleks RT-PCR, med 18S rRNA som intern standard. Verdiene for alle prøver er plottet med middelerdier og standardavvik for alle prøver som vises. De stiplede linjene viser  $\pm 3$ x total presisjon for analysen (1,93  $C_t$ ).

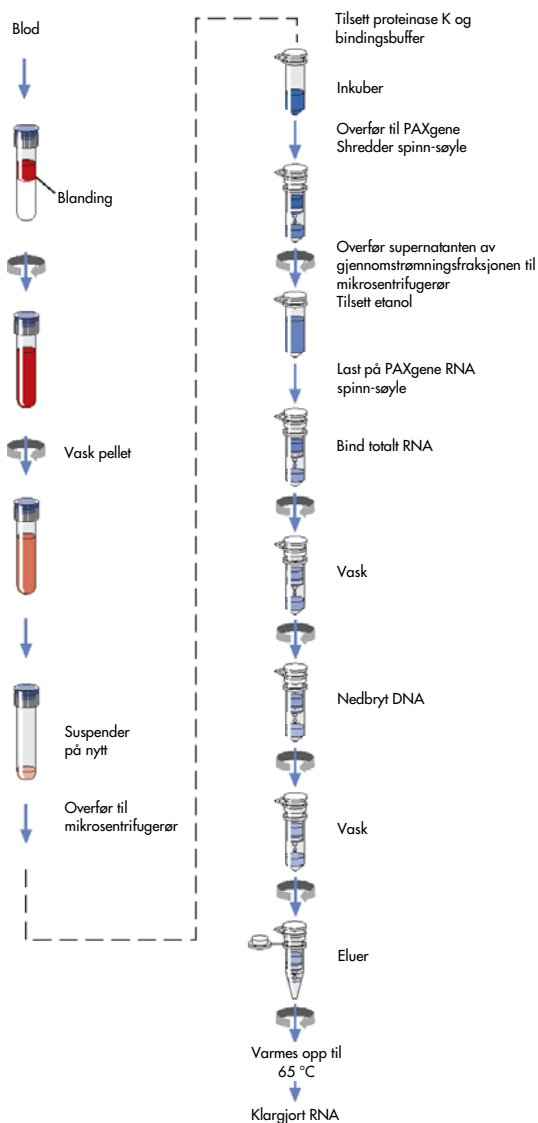
## RNA-konsentrasjon og rensing

PAXgene Blood RNA Kit er for rensing av totalt RNA fra 2,5 ml humant fullblod samlet i en PAXgene Blood RNA Tube (BRT). Prosedyren er enkel og kan utføres med manuelle eller automatiske prosedyrer (se figur 5 og 10, side 20 og 30). I begge protokoller starter rensing med et sentrifugeringstrinn til pellet-nukleinsyrer i PAXgene Blood RNA Tube (BRT). Pelleten vaskes og resuspenderes, etterfulgt av manuell eller automatisk RNA-rensing. I prinsippet følger begge protokollene de samme protokolltrinnene med de samme kitkomponentene.

### Manuell RNA-rensing

Den resuspenderte pelleten inkuberes i optimerede buffere sammen med proteinase K (PK) for å oppnå proteinnedbrytning. En tilleggssentrifugering gjennom PAXgene Shredder spinn-søylen (PSC) utføres for å homogenisere cellelysatsen og fjerne restceller, og supernatanten av gjennomstrømningsfraksjonen overføres til et nytt mikrosentrifugerør. Etanol tilsettes for å justere bindingsforhold, og lysatsen anvendes på en PAXgene RNA-spinn-søyle (PRC). Under en kort sentrifugering bindes RNA selektivt til PAXgene-silikamembranen når kontaminanter går gjennom den. Resterende kontaminanter fjernes i flere effektive vasketrinn. Mellom første og andre vasketrinn behandles membranen med DNase I (RNFD) for å fjerne spor av bundet DNA. Etter vasketrinnene elueres RNA i elueringsbuffer (BR5) og varmedenatureres.

Totalt RNA som renses med PAXgene Blood RNA System er rent. Med den manuelle protokollen er  $A_{260}/A_{280}$ -verdier mellom 1,8 og 2,2, og  $\leq 1$  % (vekt/vekt) genomisk DNA finnes i  $\geq 95$  % av alle prøver, som målt med kvantitativ, sanntids-PCR av en sekvens av beta-aktin-genet. Minst 95 % av prøvene viser ingen hemming i RT-PCR ved bruk av opptil 30 % av eluatet.

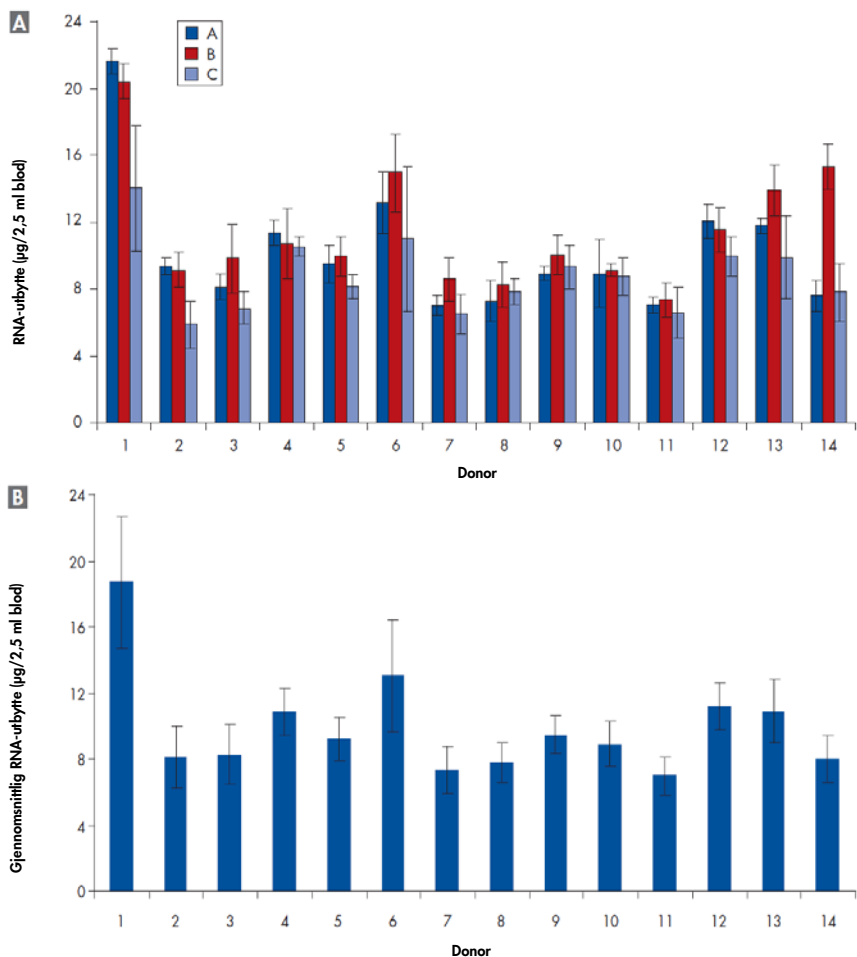


**Figur 5. Manuell PAXgene Blood RNA-prosedyre.**

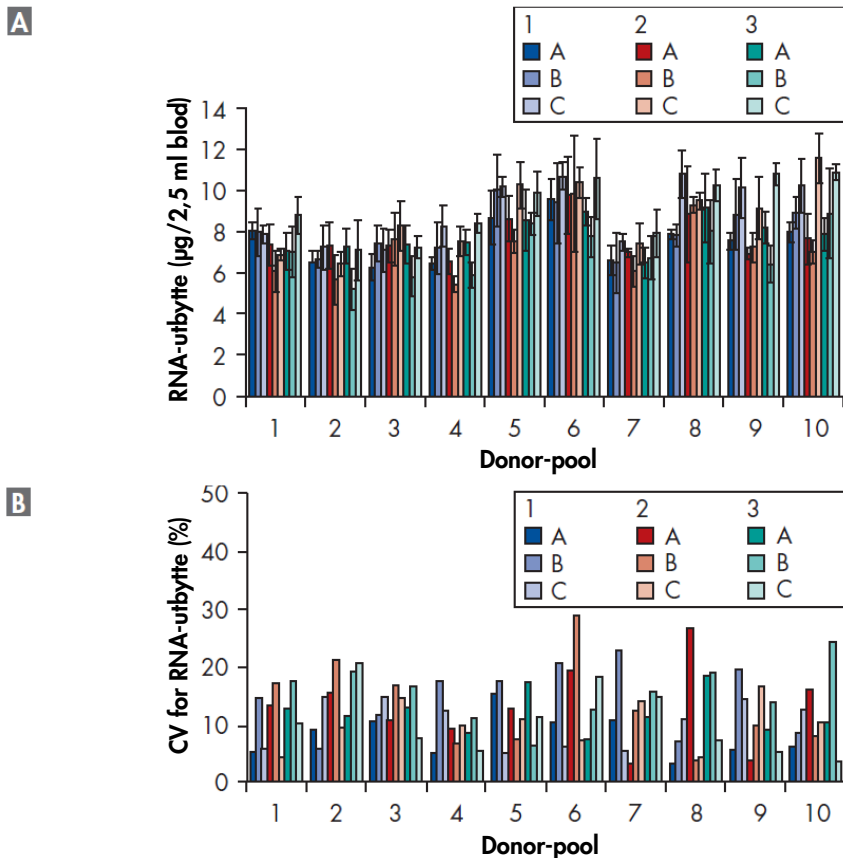
Med den manuelle protokollen er gjennomsnittlig prøveklargjøringstid (basert på data fra 12 prøveklargjøringer) ca. 90 minutter\*, med bare 40 minutter praktisk arbeidstid. RNA-utbytte fra 2,5 ml friskt humant fullblod er  $\geq 3 \mu\text{g}$  for  $\geq 95 \%$  av prøvene som er behandlet. Siden utbytte er sterkt donoravhengig, kan individuelle utbytteverdier variere. For individuelle donorer gir PAXgene Blood RNA System svært reproducerbare og repeterbare utbytteverdier (figurer 6 og 7, side 22 og 23) og reproducerbar og repeterbar RT-PCR (figur 8 og 9, side 27 og 28), noe som gjør systemet svært robust for kliniske diagnostiske tester.

Figur 6 (side 22) indikerer den generelle repeterbarheten og reproducerbarheten av PAXgene Blood RNA System. Flere studier ble utført for å vise påvirkningen av forskjellige PAXgene Blood RNA Kit-partier og forskjellige operatører på reproducerbarheten av RNA-utbytte og sanntids-RT-PCR-ytelse. Da samlinger av blodprøver ble brukt i stedet for individuelle PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) for disse studiene, gjenspeiler ikke resultatene systemets repeterbarhet, inkludert variasjoner mellom individuelle blodprøver, men bare repeterbarheten av prøveklargjøringen (se figur 7, side 23).

\* Samlet protokollkjøretid, herunder foregående håndtering av PAXgene Blood RNA Tubes (sentrifugeringer, pelletvask og pelletresuspensjon).



**Figur 6. Reproduserbar og repeterbar RNA-rensing.** Blodprøver i kvadruplikat fra 14 donorer ble behandlet manuelt av hver av 3 teknikere (A, B, C). Tre sett med utstyr ble brukt, og alle prøver klargjort av én tekniker ble behandlet med det samme utstyret. **[A]** Gjennomsnitt og standardavvik for RNA-utbytte per replikate prøver fra de samme donorene og forskjellige teknikere vises. **[B]** Tolv replikate blodprøver fra hver av 14 donorer ble behandlet av de 3 forskjellige teknikerne. Gjennomsnitt og standardavvik for RNA-utbytte per prøver fra de samme donorene og alle teknikere vises. For alle RNA-prøver varierte  $A_{260}/A_{280}$ -forhold fra 1,8 til 2,2.



**Figur 7. Repeterbarhet og reproduserbarhet for RNA-utbytte for forskjellige operatører og PAXgene Blood RNA Kit-partier som bruker samlede blodprøver.** Blodprøver fra 30 forskjellige donorer ble samlet i PAXgene Blood RNA Tubes (BRT, 12 rør per donor, totalt 360 rør). Innholdet i rørene fra 3 donorer ble samlet og deretter alikvotert på nytt til 36 prøver. Disse 36 prøvene per 3 donor-pool ble behandlet manuelt av 3 forskjellige operatører. Hver operatør brukte 3 forskjellige PAXgene Blood RNA Kit-partier for å trekke ut og behandle kvadruplikate prøver fra hver av de 10 donor-poolene. **[A]** RNA-utbytte og standardavvik for hver operatør-parti-kombinasjon. Kvadruplikate blodprøver fra 10 donor-pooler ble behandlet av 3 forskjellige operatører (A, B, C) med hver av 3 kit-partier (1, 2, 3). Gjennomsnittlige utbytteverdier (kolonnene) og standardavvikene (feilsøyler) per kvadruplikate prøve fra den samme donor-poolen for forskjellige operatører og forskjellige kit-partier vises. **[B]** CV for RNA-utbytte per donor-pool for alle operatør-parti-kombinasjoner (A, B, C, 1, 2, 3) som beregnet fra gjennomsnittlig utbytte og standardavvik for utbyttet vises i figur 7A.

**Tabell 1A. Reproduserbarhet innenfor hvert parti og innenfor hver bruker for valgte donor-pooler (1, 6, 9, 10)**

Kombinerte data	Donor-pool 1 5,1 x 10 <sup>6</sup> celler/ml			Donor-pool 6 6,5 x 10 <sup>6</sup> celler/ml		
	Gjennomsnittlig utbytte (µg)	SD (µg)	CV (%)	Gjennomsnittlig utbytte (µg)	SD (µg)	CV (%)
Parti 1, bruker A	8,03	0,42	5	9,55	0,99	10
Parti 1, bruker B	7,98	1,17	15	9,38	1,94	21
Parti 1, bruker C	7,87	0,45	6	10,71	0,65	6
Parti 2, bruker A	7,32	0,98	13	9,78	1,89	19
Parti 2, bruker B	6,09	1,04	17	9,82	2,83	29
Parti 2, bruker C	6,87	0,31	4	10,37	0,74	7
Parti 3, bruker A	7,04	0,90	13	8,96	0,68	8
Parti 3, bruker B	6,98	1,22	17	7,73	0,97	13
Parti 3, bruker C	8,78	0,89	10	10,59	1,94	18
Kombinerte data	Donor-pool 9 8,4 x 10 <sup>6</sup> celler/ml			Donor-pool 10 10,2 x 10 <sup>6</sup> celler/ml		
	Gjennomsnittlig utbytte (µg)	SD (µg)	CV (%)	Gjennomsnittlig utbytte (µg)	SD (µg)	CV (%)
Parti 1, bruker A	7,52	0,41	6	7,96	0,49	6
Parti 1, bruker B	8,82	1,72	19	8,90	0,76	9
Parti 1, bruker C	10,14	1,46	14	10,22	1,29	13
Parti 2, bruker A	6,92	0,27	4	7,63	1,23	16
Parti 2, bruker B	7,20	0,71	10	7,00	0,56	8
Parti 2, bruker C	9,14	1,52	17	11,56	1,21	10
Parti 3, bruker A	8,18	0,76	9	7,85	0,82	10
Parti 3, bruker B	6,41	0,88	14	8,88	2,17	24
Parti 3, bruker C	10,78	0,56	5	10,88	0,37	3



**Tabell 1B. Reproduserbarhet innenfor hver bruker og mellom alle partier for valgte donor-pooler (1, 6, 9, 10)**

	Donor-pool 1 5,1 x 10 <sup>6</sup> celler/ml			Donor-pool 6 6,5 x 10 <sup>6</sup> celler/ml		
	Gjennomsnittlig utbytte (µg)	SD (µg)	CV (%)	Gjennomsnittlig utbytte (µg)	SD (µg)	CV (%)
<b>Kombinerte data</b>						
Bruker A, alle partier	7,46	0,85	11	9,43	1,22	13
Bruker B, alle partier	7,02	1,31	19	8,98	2,09	23
Bruker C, alle partier	7,84	0,98	13	10,56	1,15	11
	Donor-pool 9 8,4 x 10 <sup>6</sup> celler/ml			Donor-pool 10 10,2 x 10 <sup>6</sup> celler/ml		
	Gjennomsnittlig utbytte (µg)	SD (µg)	CV (%)	Gjennomsnittlig utbytte (µg)	SD (µg)	CV (%)
<b>Kombinerte data</b>						
Bruker A, alle partier	7,54	0,72	10	7,81	0,82	11
Bruker B, alle partier	7,48	1,50	20	8,26	1,54	19
Bruker C, alle partier	10,02	1,34	13	10,89	1,10	10

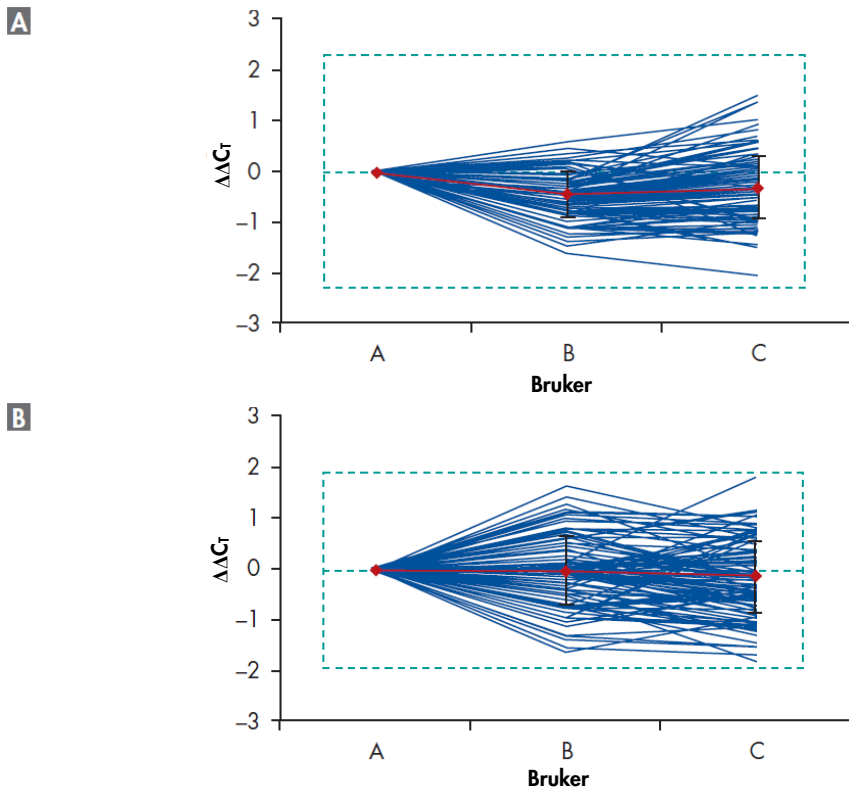
**Tabell 1C. Reproduserbarhet innenfor hvert parti og mellom alle brukere for valgte donor-pooler (1, 6, 9, 10)**

	Donor-pool 1 5,1 x 10 <sup>6</sup> celler/ml			Donor-pool 6 6,5 x 10 <sup>6</sup> celler/ml		
	Gjennomsnittlig utbytte (µg)	SD (µg)	CV (%)	Gjennomsnittlig utbytte (µg)	SD (µg)	CV (%)
<b>Kombinerte data</b>						
Parti 1, alle brukere	7,96	0,69	9	9,88	1,34	14
Parti 2, alle brukere	6,76	0,93	14	9,99	1,84	18
Parti 3, alle brukere	7,60	1,27	17	9,09	1,71	19
	Donor-pool 9 8,4 x 10 <sup>6</sup> celler/ml			Donor-pool 10 10,2 x 10 <sup>6</sup> celler/ml		
	Gjennomsnittlig utbytte (µg)	SD (µg)	CV (%)	Gjennomsnittlig utbytte (µg)	SD (µg)	CV (%)
<b>Kombinerte data</b>						
Parti 1, alle brukere	8,83	1,63	19	9,02	1,27	14
Parti 2, alle brukere	7,75	1,36	18	8,73	2,31	26
Parti 3, alle brukere	8,46	1,99	24	9,20	1,80	20

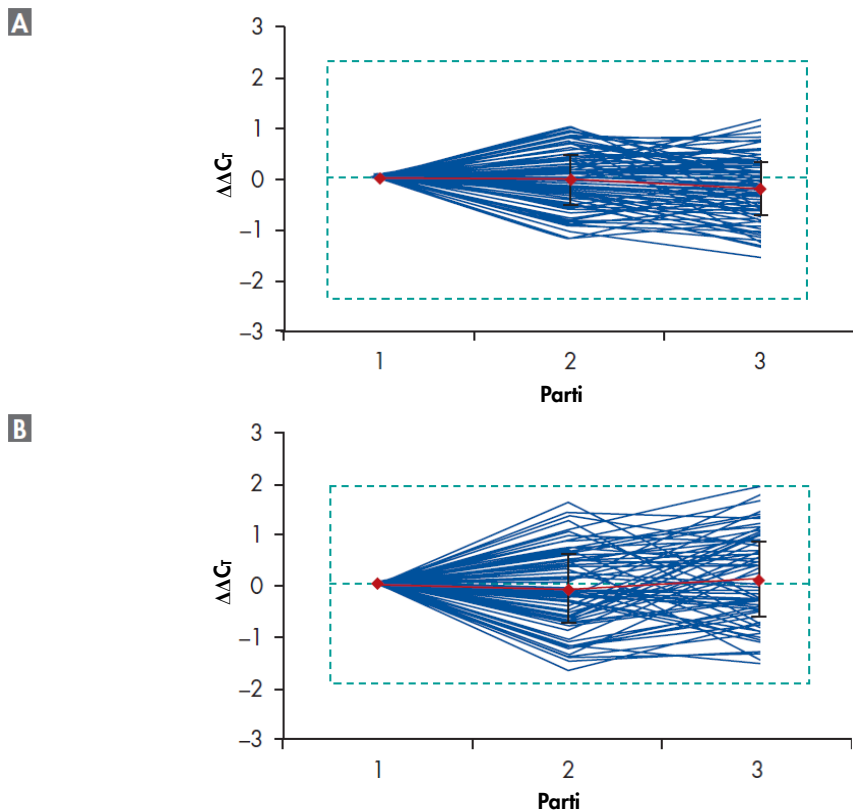
**Tabell 1D. Reproduserbarhet mellom alle partier og alle brukere for valgte donor-pooler (1, 6, 9, 10)**

	Donor-pool 1 5,1 x 10 <sup>6</sup> celler/ml			Donor-pool 6 6,5 x 10 <sup>6</sup> celler/ml		
	Gjennomsnittlig utbytte (µg)	SD (µg)	CV (%)	Gjennomsnittlig utbytte (µg)	SD (µg)	CV (%)
<b>Kombinerte data</b>						
Parti 1, alle brukere	7,44	1,09	15	9,66	1,65	17
	Donor-pool 9 8,4 x 10 <sup>6</sup> celler/ml			Donor-pool 10 10,2 x 10 <sup>6</sup> celler/ml		
	Gjennomsnittlig utbytte (µg)	SD (µg)	CV (%)	Gjennomsnittlig utbytte (µg)	SD (µg)	CV (%)
<b>Kombinerte data</b>						
Parti 1, alle brukere	8,35	1,70	20	8,99	1,80	20

Detaljert analyse av 4 representative donor-pooler. Valg av poolene var basert på leukocyttantallet og reflekterte de øvre, mellomste og nedre verdiene for normalområdet for leukocyttantall ( $4,8 \times 10^6$  –  $1,1 \times 10^7$  leukocytter/ml). Leukocyttantallet representerer gjennomsnittet for 3 leukocyttellinger fra 3 donorer per donor-pool.



**Figur 8. Reproduserbarheten for RT-PCR mellom brukere.** RNA renset i eksperimentet beskrevet i figur 7 ble brukt i sanntids-RT-PCR. Relative transkriptnivåer av **[A]** FOS og **[B]** IL1B ble bestemt i sanntid, dupleks RT-PCR med 18S rRNA som intern standard. Verdiene for alle prøver er plottet inn, i forhold til verdiene for bruker 1 (10 donor-pooler x 3 kit-partier x 4 replikater = 120 datasett for hvert gen), med gjennomsnitt (røde linjer) og standardavvik (svarte søyler) for alle prøver som vises. De stiplede linjene viser  $\pm 3\times$  total presisjon for analysene (FOS: 2,34  $C_t$ ; IL1B: 1,93  $C_t$ ).



**Figur 9. Reproduserbarheten for RT-PCR mellom kit-partier.** RNA renset i eksperimentet beskrevet i figur 7 ble brukt i sanntids-RT-PCR. Relative transkriptnivåer av **[A]** FOS og **[B]** IL1B ble bestemt i sanntid, dupleks RT-PCR med 18S rRNA som intern standard. Verdiene for alle prøver er plottet inn, i forhold til verdiene for kit-parti 1 (10 donor-pooler x 3 brukere x 4 replikater = 120 datasett for hvert gen), med gjennomsnitt (røde linjer) og standardavvik (svarte søyler) for alle prøver som vises. De stiplede linjene viser  $\pm 3 \times$  total presisjon for analysene (FOS: 2,34  $C_t$ ; IL1B: 1,93  $C_t$ ).

**Tabell 2. Sammendrag av RT-PCR-data fra figur 8 og 9**

Testsystem	FOS/18S rRNA-analyse		IL1B/18S rRNA-analyse	
	Gjennomsnitt ( $\Delta\Delta C_T$ )	$\pm$ SD ( $\Delta\Delta C_T$ )	Gjennomsnitt ( $\Delta\Delta C_T$ )	$\pm$ SD ( $\Delta\Delta C_T$ )
<b>Reproduserbarhet innen hver bruker og mellom alle partier</b>				
Alle brukere, parti 1 – parti 1	0,00	0,00	0,00	0,00
Alle brukere, parti 1 – parti 2	-0,03	0,48	-0,07	0,66
Alle brukere, parti 1 – parti 3	-0,21	0,52	0,11	0,71
<b>Reproduserbarhet innen hver bruker og mellom alle partier</b>				
Alle partier, bruker A – bruker A	0,00	0,00	0,00	0,00
Alle partier, bruker A – bruker B	-0,46	0,44	-0,06	0,69
Alle partier, bruker A – bruker C	-0,31	0,60	-0,15	0,71

Bruker: Tekniker, utførte studien.

Parti: Nummer på kit-parti som er brukt i denne studien.

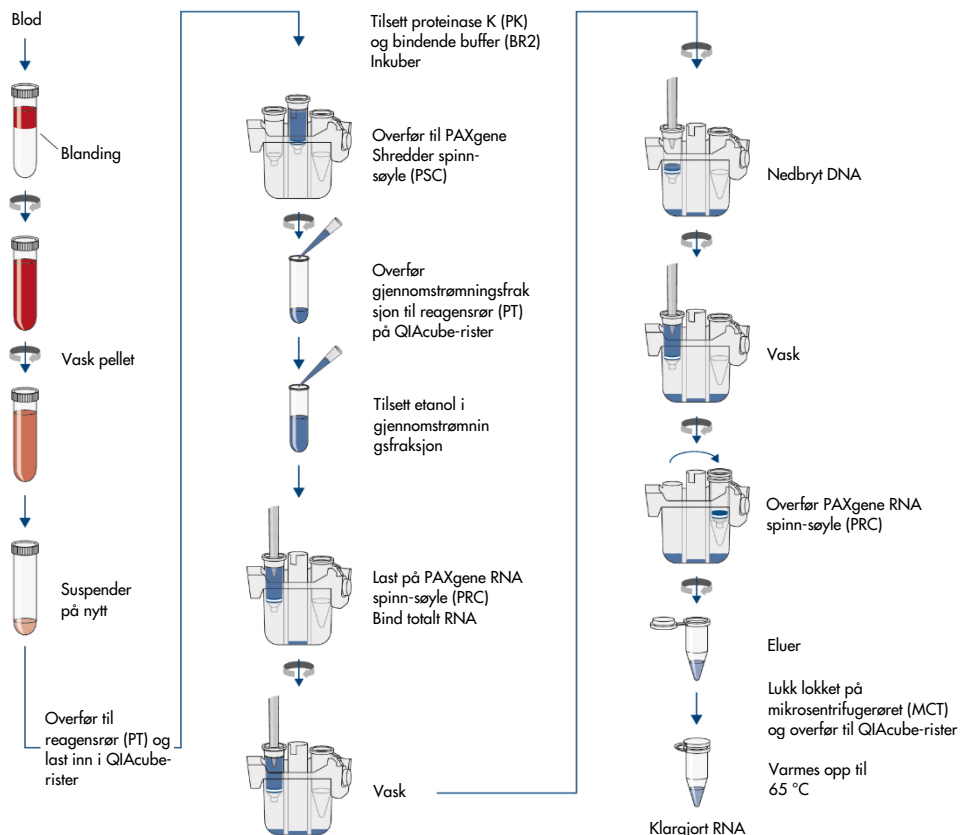
SA: Standardavvik.

Gjennomsnittlige  $\Delta\Delta C_T$ -verdier (N = 120) og standardavvik vises for data som presenteres i figur 8 og 9.

## Automatisk RNA-rensing

Prøveklargjøring er automatisert ved hjelp av standard QIAcube®-instrument (kat.nr. 9001882 [110 V], kat.nr. 9001293 [230 V]; ikke inkludert QIAcube Connect) og følger de samme trinnene som den manuelle prosedyren, slik at du kan fortsette å bruke PAXgene Blood RNA Kit for å rense RNA av høy kvalitet. Se *brugerhåndboken for QIAcube* (QIAcube User Manual) og [www.qiagen.com/MyQIAcube](http://www.qiagen.com/MyQIAcube) for mer informasjon om QIAcube.

Den automatiske RNA-rensingsprotokollen består av 2 deler (eller protokoller), "PAXgene Blood RNA Part A" og "PAXgene Blood RNA Part B", med en kort manuell intervensjon mellom de 2 delene (se figur 10, side 30).



**Figur 10. Automatisk PAXgene Blood RNA-prosedyre.**

Den sentrifugerte, vaskede og resuspenderte nukleinsyrepelletten (se "RNA-konsentrasjon og rensing", side 19) overføres fra PAXgene Blood RNA Tube (BRT) til reagensrør, som settes i termo-/risterenheten på QIAcube-arbeidsbordet. Operatøren velger og starter "PAXgene Blood RNA Part A"-protokollen fra menyen. QIAcube utfører trinnene i protokollen frem til eluering av RNA i elueringsbufferen (BR5). Operatøren overfører mikrosentrifugerørene som inneholder rensed RNA, til termo-/risterenheten til QIAcube. Operatøren velger og starter "PAXgene Blood RNA Part B"-protokollen fra menyen, og varmedenatureringen utføres av QIAcube.

Gjennomsnittlig prøveklargjøringstid (basert på data fra 12 prøveklargjøringar) er 151 minutter\*, med vesentlig mindre praktisk arbeidstid sammenlignet med den manuelle protokollen.

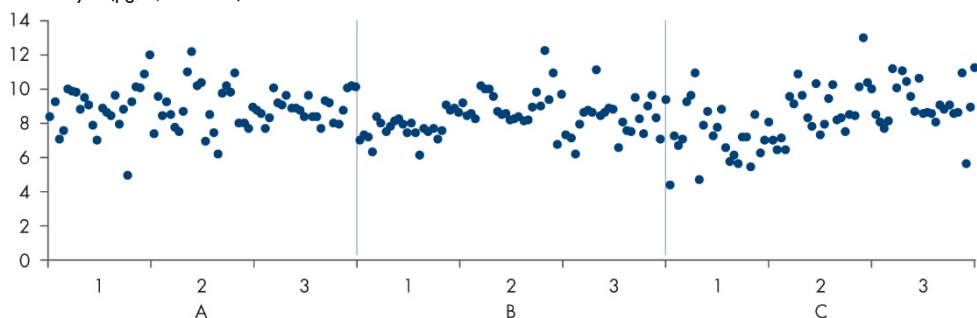
RNA-utbytte fra 2,5 ml friskt humant fullblod er  $\geq 3 \mu\text{g}$  for  $\geq 95 \%$  av prøvene som er behandlet. Figur 11 (side 32) viser RNA-utbytteverdiene fra totalt 216 prøver klargjort med den automatiske protokollen med 3 kit-partier av 3 operatører. Da samlede blodprøver ble brukt til disse studiene i stedet for individuelle PAXgene Blood RNA Tubes (BRT), viser ikke resultatene RNA-utbyttet forventet fra enkeltprøver av individuelle blodprøver. Siden utbytteverdier er sterkt donoravhengige, kan individuelle utbytteverdier variere (figur 11, side 32).

Minst 95 % av prøvene viser ingen hemming i RT-PCR ved bruk av opptil 30 % av eluatet. Krysskontaminasjon mellom prøvene kan ikke detekteres med den automatiske protokollen, målt med kvantitativ, sanntids-RT-PCR av sekvensene av ABL1- og FOS-transkripter i RNA-negative prøver (vann) parett med RNA-positive prøver (humant fullblod) i samme kjøring.

RNA renses med PAXgene Blood RNA System og den automatiske protokollen er rent, som vist av manglende RT-PCR-hemming (se figur 11, side 32) og  $A_{260}/A_{280}$ -verdier mellom 1,8 og 2,2. Genomisk DNA finnes ved  $\leq 1 \%$  ((vekt/vekt)) i  $\geq 95 \%$  av alle prøver, som målt med kvantitativ, sanntids-PCR av en sekvens av beta-aktin-genet. Figur 12 og 13 (side 32 og 33) viser  $A_{260}/A_{280}$ -verdiene og relativt genomisk DNA av totalt 216 prøver klargjort med den automatiske protokollen med 3 kit-partier av 3 operatører.

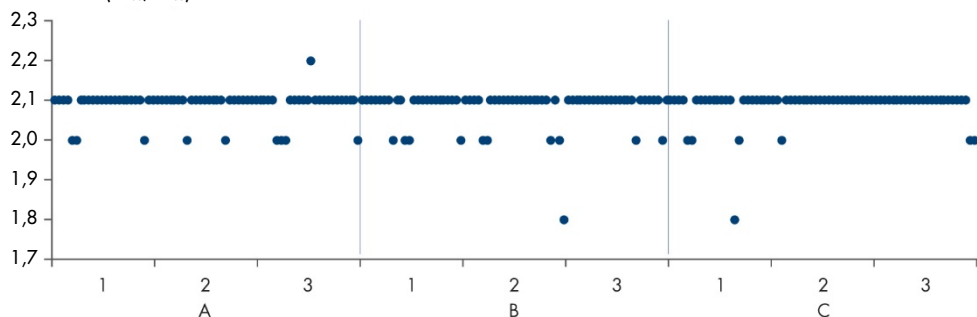
\* Samlet protokollkjøretid, herunder foregående håndtering av PAXgene Blood RNA Tubes (sentrifugeringer, pelletvask og pelletresuspensjon).

RNA-utbytte ( $\mu\text{g}/2,5 \text{ ml}$  blod)



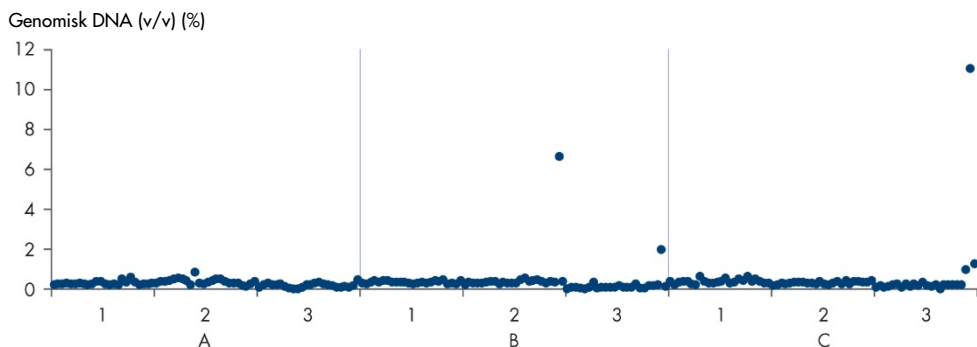
**Figur 11. RNA-utbytte – automatisk behandling.** Blodprøver fra 36 forskjellige donorer ble samlet i PAXgene Blood RNA Tubes (BRT, 6 rør per donor, totalt 216 rør). Innholdet i rørene fra 6 donorer ble samlet og deretter alikvotert på nytt til 36 prøver. Disse 36 prøvene per 6 donor-pool ble behandlet av 3 forskjellige operatører (A, B, C). Hver operatør brukte 3 forskjellige partier (1, 2, 3) av PAXgene Blood RNA Kit for å trekke ut og behandle kvadruplicate prøver fra hver av de 6 donor-poolene. RNA-utbytteverdier for alle individuelle prøver vises for hver operatør-parti-kombinasjon.

RNA-renhet ( $A_{260}/A_{280}$ )



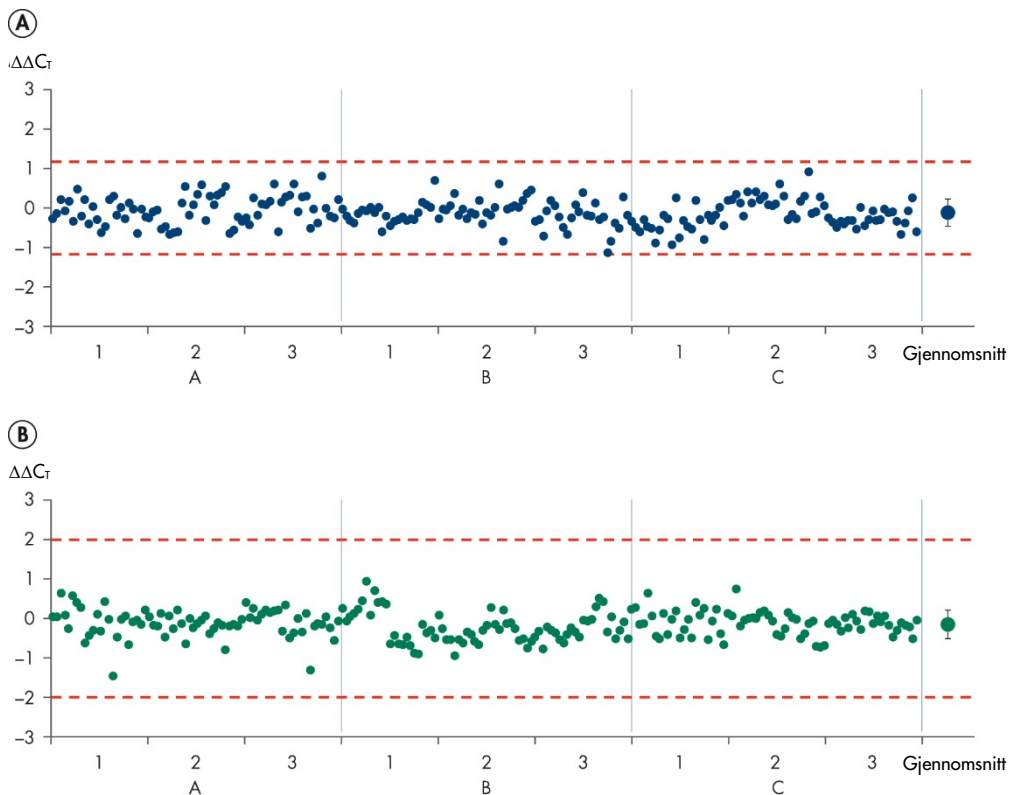
**Figur 12. RNA-renhet ( $A_{260}/A_{280}$ -verdier) – automatisk behandling.** RNA ble renset av 3 forskjellige operatører (A, B, C) med 3 forskjellige partier (1, 2, 3) av PAXgene Blood RNA Kit i eksperimentet beskrevet i figur 11.  $A_{260}/A_{280}$ -verdier av alle individuelle prøver vises for hver operatør-parti-kombinasjon.





**Figur 13. RNA-renhet (% genomisk DNA-kontaminasjon) — automatisk behandling.** RNA ble rensset av 3 forskjellige operatører (A, B, C) med 3 forskjellige partier (1, 2, 3) av PAXgene Blood RNA Kit i eksperimentet beskrevet i figur 11. Genomiske DNA-mengder (vekt/vekt) i alle individuelle prøver vises for hver operatør-parti-kombinasjon.

Den automatiske protokollen for RNA-rensing med PAXgene Blood RNA System gir høyst reproduerbare og repeterbare RT-PCR-resultater, som vist i figur 14 (side 34), noe som gjør den svært robust for kliniske diagnostiske tester.



**Figur 14. Reproduserbarheten for RT-PCR – mellom automatiske og manuelle protokoller.** RNA ble renset av 3 forskjellige operatører (A, B, C) med 3 forskjellige partier (1, 2, 3) av PAXgene Blood RNA Kit ved bruk av den automatiske protokollen i eksperimentet beskrevet i figur 11. Parallelt ble RNA renset fra tilsvarende replikatrør ved hjelp av den manuelle protokollen. Relative transkriptnivåer av **[A]** FOS og **[B]** IL1B ble bestemt i sanntid, dupleks RT-PCR med 18S rRNA som intern standard. Mulige forskjeller i transkriptnivåer mellom RNA klargjort fra parede blodprøver med begge ekstraksjonsprotokoller (automatisk og manuell protokoll) ble beregnet med  $\Delta\Delta C_T$ -metoden. Individuelle  $\Delta\Delta C_T$ -verdier for alle prøvepar (4 replikater x 6 donor-pooler x 3 kit-partier x 3 operatører = 216 par for hvert gen) plottes som enkeltprikker med gjennomsnitt (større prikker) og standardavvik (svarte søyler) for alle prøver som vises. De stiplede linjene viser  $\pm 3 \times$  total presisjon for analysene (FOS: 1,16  $C_T$ ; IL1B: 1,98  $C_T$ ; forskjellige analysepresisjoner sammenlignet med figur 1–4, 8 og 9 på grunn av forskjellige analyseversjoner).

# Utstyr og reagenser som brukeren må sørge for

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablad (SDS) som leveres av leverandøren av produktet, hvis du ønsker mer informasjon.

## For alle protokoller

- PAXgene Blood RNA Tubes (BRT; kat.nr. 762165)
- Etanol (96–100 %, renhetsgrad p.a.)
- Pipetter\* (10 µl – 4 ml)
- Steril, aerosolbarriere, RNase-frie pipettespisser†
- Gradert sylinder‡
- Sentrifuge\* som kan oppnå 3000–5000 x g, og er utstyrt med en svingbar rotor og beholdere for PAXgene Blood RNA Tubes (BRT)
- Vorteksmikser\*
- Knust is
- Permanent penn for merking

## For den manuelle protokollen

- Mikrosentrifuge\* med variabel hastighet som kan oppnå et område på minst 1000–8000 x g, men lavere og høyere g-krefter kan gjelde (se protokolltrinn for detaljer), og er utstyrt med en rotor for 2 ml mikrosentrifugerør

\* Pass på at instrumentene er sjekket, vedlikeholdt og kalibrert regelmessig i henhold til produsentens anbefalinger.

† Pass på at du er godt kjent med retningslinjene for håndtering av RNA (Vedlegg A, side 64).

‡ For tilsetning av etanol til Buffer BR4-konsentrat.

- Rister/inkubator\* som kan inkubere ved 55 °C og 65 °C og riste ved  $\geq 400$  o/min, ikke over 1400 o/min (for eksempel Eppendorf® Thermomixer Compact eller tilsvarende)

### For den automatiske protokollen

- QIAcube\* (QIAGEN, kat.nr. 9001882 [110 V], kat.nr. 9001293 [230 V])
- Saks

#### QIAcube-forbruksvarer

- Filter-Tips, 1000  $\mu$ l (1024) (QIAGEN, kat.nr. 990352)<sup>†</sup>
- Reagent Bottles, 30 ml (6) (QIAGEN, kat.nr. 990393)<sup>†</sup>
- Rotor Adapters (10 x 24) (QIAGEN, kat.nr. 990394)<sup>†</sup>

#### QIAcube-tilbehør

- Reagent Bottle Rack (QIAGEN, kat.nr. 990390)<sup>†</sup>
- Rotor Adapter Holder (QIAGEN, kat.nr. 990392)<sup>†</sup>

\* Pass på at instrumentene er sjekket, vedlikeholdt og kalibrert regelmessig i henhold til produsentens anbefalinger.

<sup>†</sup> Også inkludert i Starter Pack, QIAcube (QIAGEN, kat.nr. 990395)

# Viktige merknader

## Bruke QIAcube

Sørg for at du er kjent med bruken av QIAcube. Les *QIAcube-brukerhåndboken* og eventuell tilleggsinformasjon som er levert med QIAcube, og vær spesielt oppmerksom på sikkerhetsinformasjon, før du starter de automatiske PAXgene Blood RNA-protokollene.

## Starte QIAcube

Lukk døren til QIAcube, og slå på QIAcube med strømbryteren (se figur 15 side 38).

En pipelyd avgis, og oppstartskjermbildet vises. Instrumentet utfører initialiseringstester automatisk.

## Installere protokoller på QIAcube

En protokollinstallasjon må først utføres før den første RNA-forberedende kjøringen på QIAcube kan utføres. Installer både "PAXgene Blood RNA Part A"- og "PAXgene Blood RNA Part B"-protokollene.

Protokoller fås på [www.qiagen.com/MyQIAcube](http://www.qiagen.com/MyQIAcube) og må lastes ned til USB-pinnen som leveres sammen med QIAcube, og overføres til QIAcube via USB-porten.

Med USB-porten som sitter bak frontpanelet (se figur 15, side 38), kan QIAcube kobles til en USB-pinne (leveres med QIAcube). Datafiler, f.eks. loggfiler eller rapportfiler, kan også overføres via USB-porten fra QIAcube til USB-pinnen.



USB-porten er kun til bruk med USB-pinnen som er levert av QIAGEN. Ikke koble andre enheter til denne porten.



Ikke ta ut USB-pinnen når du laster ned protokoller eller overfører datafiler, eller under en protokollkjøring.



**Figur 15. QIAcube sett forfra.**

1

Berøringsskjerm

2

Dør

3

RS232-serieporten bak panelet (kun til bruk av QIAGEN instrumentservicespesialister)

4

USB-port bak panelet

5

Strømbryter

6

Avfallsskuff

## Laste QIAcube

For å spare tid kan lasting utføres under et av eller begge sentrifugeringstrinnene på 10 minutter (trinn 3 og 5) i "Protokoll: Automatisk rensing av totalt RNA fra humant fullblod samlet i PAXgene Blood RNA Tubes (BRT)", side 55.

### Reagensflasker

Før hver kjøring på QIAcube må du forsiktig fylle de 4 reagensflaskene med reagensene angitt i tabell 3 opp til maksimalt indikatornivå eller, hvis dette ikke er mulig, til nivået tillatt av buffervolumene medfølgende PAXgene Blood RNA Kit. Merk flaskene og lokkene tydelig med buffernavn, og sett de fylte reagensflaskene i riktig posisjon i reagensflaskestativet. Last stativet på QIAcube-arbeidsbordet som vist (figur 16 og 17, side 40 og 41).



Det leverte volumet av Buffer BR2 vil ikke fylle en reagensflaske til indikatornivået. Buffere BR3 og BR4 fyller kanskje ikke flasken til indikatornivået etter behandling av flere prøver i tidligere kjøring.



Pass på at lokkene fjernes fra flaskene før de settes på arbeidsbordet.

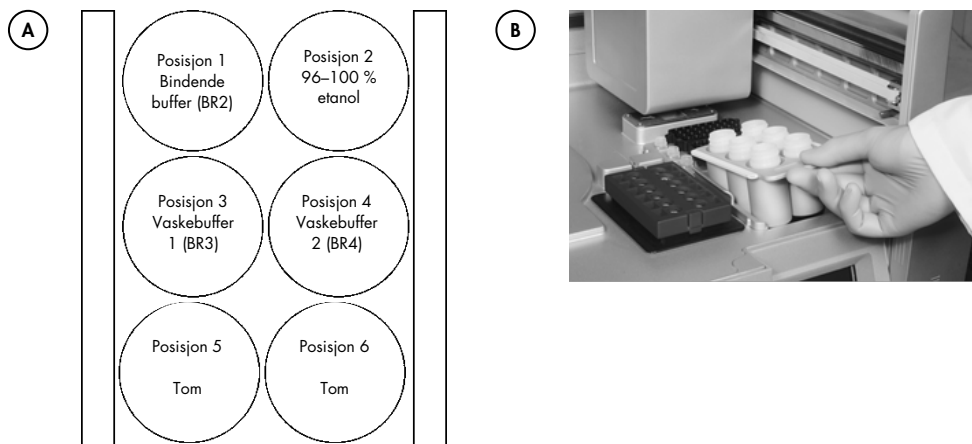


Buffervolumer som er gitt i PAXgene Blood RNA Kit (50) er nok til maks 7 RNA-klargjøringskjøringer på QIAcube, med prøveantall på 2 til 12 per kjøring. Generelt bør kjøring med lave prøveantall unngås for å behandle i alt 50 prøver per kit med høyst 7 RNA-klargjøringskjøringer. Mer enn 7 RNA-klargjøringskjøringer kan føre til utilstrekkelige buffervolumer for behandling av de siste prøvene.

**Tabell 3. Posisjoner i reagensflaskestativet**

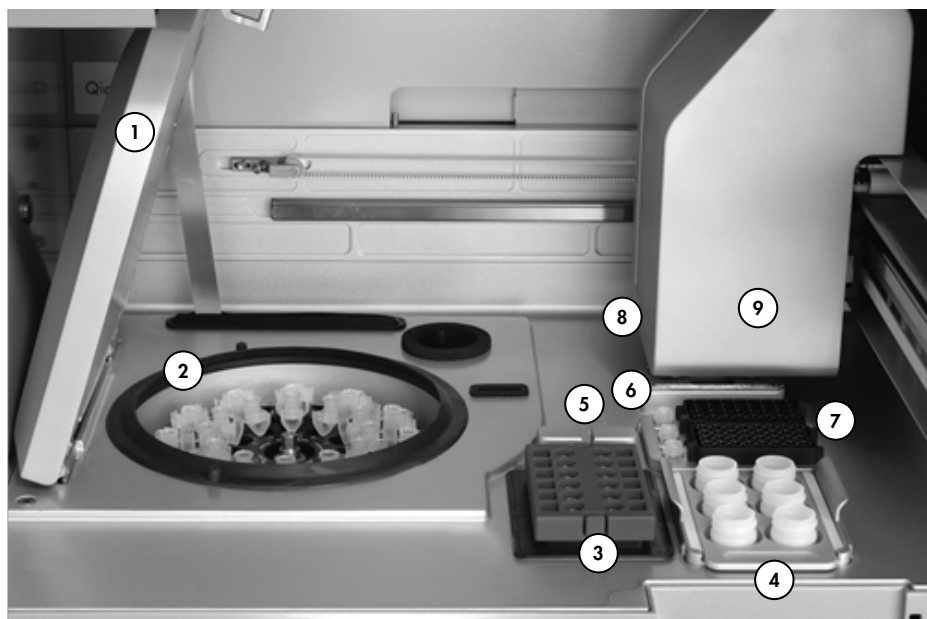
Posisjon	Reagens
1	Bindende buffer (BR2)
2	96–100 % etanol
3	Vaskebuffer 1 (BR3)
4	Vaskebuffer 2 (BR4)*
5	– (la stå tomt)
6	– (la stå tomt)

\* Vaskebuffer 2 (BR4) leveres som konsentrat. Før førstegangsbruk tilsettes 4 volumer etanol (96–100 %, renhetsgrad p.a.) som vist på flasken, for å oppnå en arbeidsløsning.



**Figur 16. Laste reagensflaskestativet.** [A] Oversikt over posisjoner og innhold i flaskene i reagensflaskestativet. [B] Laste stativet på QIAcube.





**Figur 17. QIAcube sett innenfra.**

- |   |                     |   |                                      |
|---|---------------------|---|--------------------------------------|
| ① | Sentrifugelukk      | ⑥ | Plasser for mikrosentrifugerør       |
| ② | Sentrifuge          | ⑦ | Spisstativer                         |
| ③ | Rister              | ⑧ | Engangsplasser for spisser og søyler |
| ④ | Reagensflaskestativ | ⑨ | Robotarm                             |
| ⑤ | Spiss-sensor        |   |                                      |

Spinn-søyler (PRC, PSC), mikrosentrifugerør (MCT) og QIacube-plastvare

Sett 2 spisstativer fylt med filterspisser 1000 µl i QIacube (se figur 17, side 41). Fyll på stativene med spisser ved behov.



Bruk bare 1000 µl filterspisser utviklet til bruk med QIacube.

Merk rotoradaptere og mikrosentrifugerør (MCT) for hver prøve med permanent penn. Åpne PAXgene Shredder spinn-søyler (PSC) som skal brukes, og klipp lokkene helt av med saks (se figur 18, side 43).



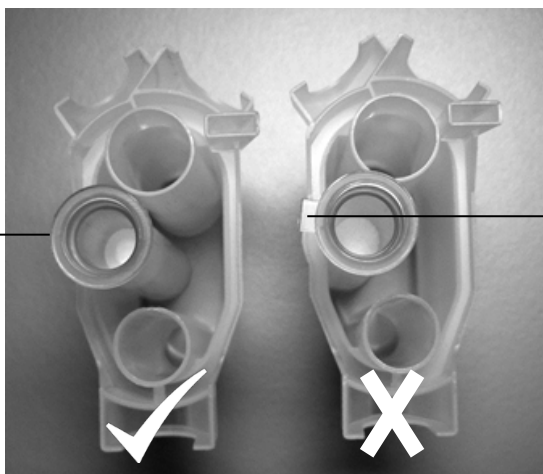
For riktig bruk av QIacube robotgrep: Ta helt av (klipp av) lokkene og alle plastdeler som kobler lokket til PAXgene Shredder spinn-søyler (PSC, se figur 16). Ellers kan ikke robotgrepet ta tak i spinn-søylene (PSC, PRC) på riktig måte.

Last PAXgene RNA spinn-søylen (PRC), PAXgene Shredder spinn-søylen (PSC, uten lokk) og merket mikrosentrifugerør (MCT) i riktige posisjoner i hver merkede rotoradapter som vist i tabell 4 og figur 19 (side 43).



Pass på at spinn-søylen (PRC) og mikrosentrifugerørlokkene (MCT) er trykt helt ned i bunnen av plassene på kanten av rotoradapteren, ellers vil de brekkes av under sentrifugering.

Søylens  
lokk tatt av  
riktig



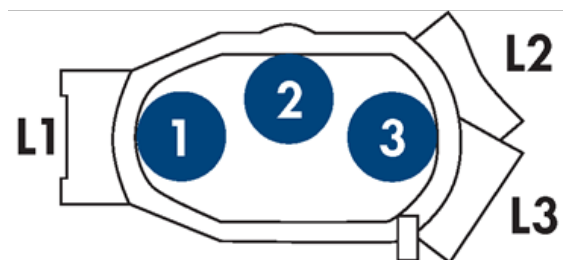
Søylens lokk  
fjernet på feil  
måte; del av  
lokket sitter  
fortsatt fast

**Figur 18. Laste PAXgene Shredder spinn-søylen (PSC).** PAXgene Shredder spinn-søylen (PSC) lastes i midtre posisjon i rotoradapteren. Klipp av lokket før søylen lastes (PSC).

**Tabell 4. Laboratorieartikler i rotoradapteren**

Posisjon	Reagens	Lokkposisjon
1	PAXgene RNA spinn-søyle (rød, PRC)	L1
2	PAXgene Shredder spinn-søyle (lilla, PSC) (klipp av lokket før den plasseres i rotoradapteren)	–
3	Mikrosentrifugerør (MCT)*	L3

\* Bruk mikrosentrifugerørene (1,5 ml) som er inkludert i PAXgene Blood RNA Kit.



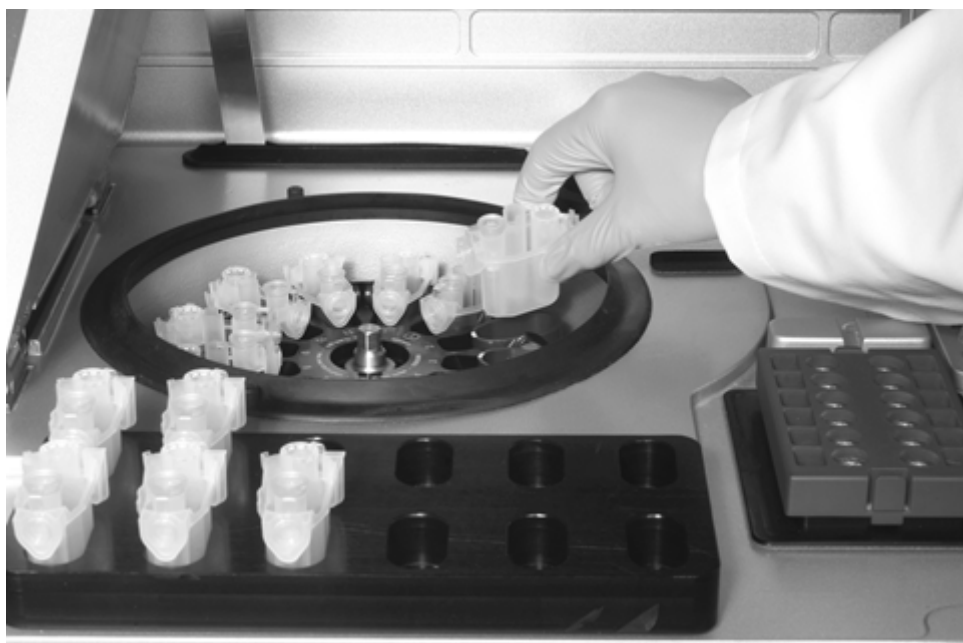
**Figur 19. Posisjoner i rotoradapteren.** Rotoradapteren har tre rørposisjoner (1–3) og tre lokkposisjoner (L1-L3).

## Laste sentrifugen

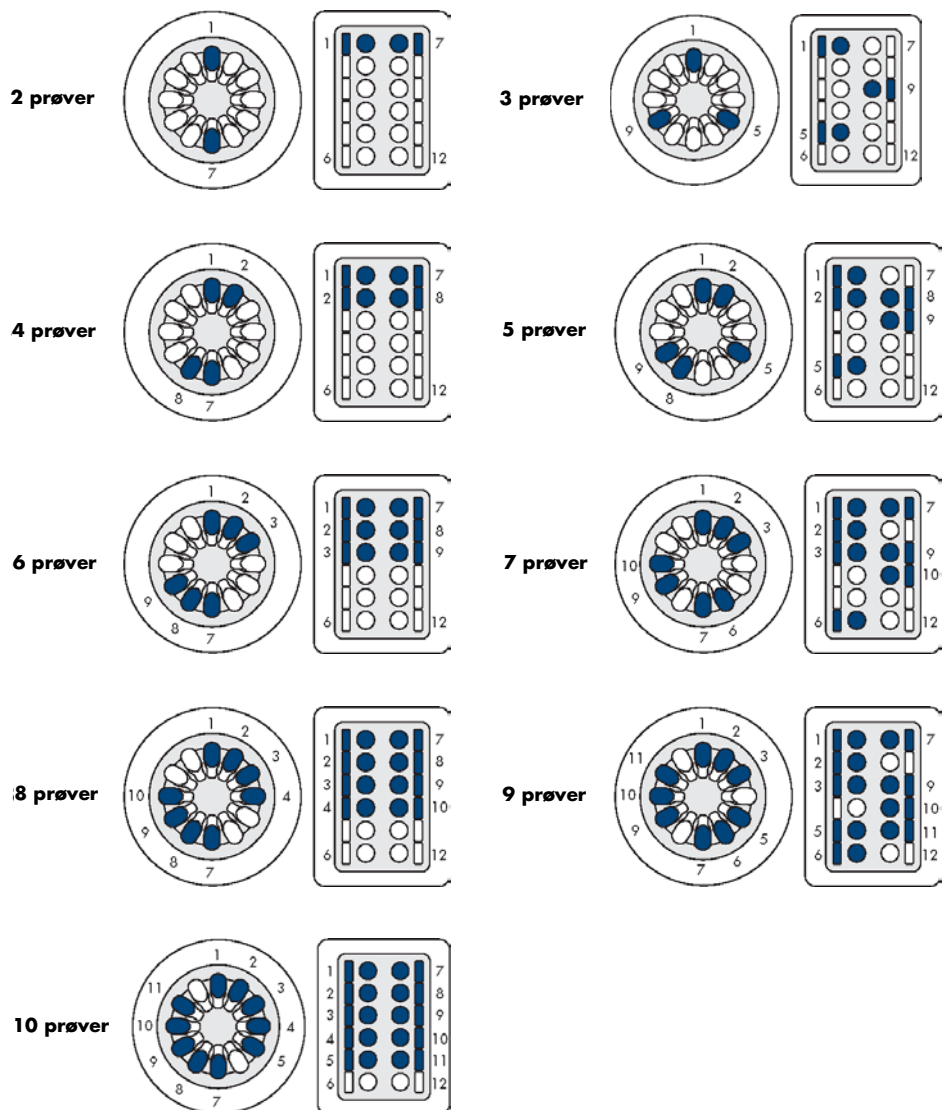
Last de monterte rotoradapterne i sentrifugebeholderne som vist i figur 20 under.



Hvis det behandles færre enn 12 prøver, pass på at du laster sentrifugerotoren balansert radially (se figur 21, side 45). Alle sentrifugebeholdere må monteres før en protokoll kjøres, selv om det skal behandles færre enn 12 prøver. Én enkelt prøve eller 11 prøver kan ikke behandles.



**Figur 20. Laste sentrifugen.** Last de monterte rotoradapterne i sentrifugebeholderne.



**Figur 21. Laste sentrifugen og risteren.** Sentrifuge- og risterposisjoner vises for behandling av to (2) til ti (10) prøver. Én eller 11 prøver kan ikke behandles.

## Reagensrør (PT)

Ta ut reagensrør (PT) som sitter igjen i mikrosentrifugerørplassene fra tidligere kjøring (se figur 17, side 41). Fyll 3 reagensrør (PT) med mengden av reagenser gitt i tabell 5, ifølge antall prøver i kjøringen.

For DNase I-inkuberingsmiks pipetterer du det indikerte volumet av DNA-nedbrytningsbufferen (RDD) i et reagensrør (PT) og tilsetter indikert volum av DNase I (RNFD)-arbeidsløsning. Bland ved å pipettere hele blandingen forsiktig opp og ned 3 ganger med en 1000 µl pipettespiss.

Bruk 2 ml-reagensrørene (PT) som er inkludert i PAXgene Blood RNA Kit. Merk rørene (PT) tydelig med reagensnavnene, og plasser dem i riktig posisjon i mikrosentrifugerørplassene, som indikert i tabell 6 (side 47).



DNase I (RNFD) er spesielt følsomt for fysisk denaturering. Bland bare ved pipettering, ved bruk av pipettespiss med stor åpning for å redusere avskjæring. Ikke bruk vorteksmikser.



Sørg for at du bare pipetterer nødvendig volum som indikert i tabell 5.

**Tabell 5. Reagensvolumer som kreves i reagensrør for mikrosentrifugerørplassene**

Antall prøver	Reagensvolum for indikert antall prøver (µl)		
	Proteinase K (PK)	DNase I-inkubasjonsblanding	Elueringsbuffer (BR5)
2	126	187 (23 DNase I + 164 Buffer RDD)	313
3	170	261 (33 DNase I + 228 Buffer RDD)	399
4	213	334 (42 DNase I + 292 Buffer RDD)	486
5	256	407 (51 DNase I + 356 Buffer RDD)	572
6	299	481 (60 DNase I + 421 Buffer RDD)	658
7	342	554 (69 DNase I + 485 Buffer RDD)	745
8	386	627 (78 DNase I + 549 Buffer RDD)	831
9	429	701 (88 DNase I + 613 Buffer RDD)	918
10	472	775 (97 DNase I + 678 Buffer RDD)	1004
12	558	921 (115 DNase I + 806 Buffer RDD)	1177

**Tabell 6. Plasser for mikrosentrifugerør**

	Posisjon		
	A	B	C
<b>Innhold</b>	Proteinase K (PK)	DNase I-inkubasjonsblanding	Elueringsbuffer (BR5)
<b>Kar</b>	Reagensrør (PT) *	Reagensrør (PT) *	Reagensrør (PT) *

\*Bruk 2 ml-reagensrørene (PT) som er inkludert i PAXgene Blood RNA Kit.

# Protokoll: Manuell rensing av totalt RNA fra humant fullblod samlet i PAXgene Blood RNA Tubes (BRT)

## Viktige punkter før du starter

- Pass på at esken er intakt og uskadet, og at bufferne ikke har lekket. Ikke bruk et kit som er skadet.
- Når du bruker pipette, pass på at den er stilt til riktig volum, og at væsken er forsiktig og fullstendig aspirert og dispensert.
- For å unngå å overføre prøver til feil rør eller spinn-søyle, pass på at alle rør og spinn-søyler er riktig merket med permanent penn. Merk lokket og hoveddelen på hvert rør (PT, MCT). For spinn-søyler merkes hoveddelen på reagensrøret (PT). Lukk hvert rør eller hver spinn-søyle etter at væsken er overført.
- Hvis prøver og buffere søles under prosedyren, kan det redusere RNA-utbyttet og -renheten.
- Med mindre noe annet er oppgitt, skal alle trinn i denne protokollen, inkludert sentrifugeringstrinn, utføres ved romtemperatur (15–25 °C).

På grunn av sensitiviteten til nukleinsyreforsterkningsteknologi, er det viktig å følge disse forholdsreglene ved håndtering av prøver for å unngå krysskontaminering:

- Pipetter prøven forsiktig i spinn-søylen (PRC, PSC) uten å fukte kanten på søylen.
- Skift alltid pipettespiss mellom væskeoverføringer. Bruk pipettespiss med aerosolbarriere.
- Unngå at spinn-søylemembranen (PRC, PSC) kommer i kontakt med pipettespissen.



- Etter vorteksblending eller oppvarming av et mikrosentrifugerør (MCT) skal det sentrifugeres kort for å fjerne dråpene fra innsiden av lokket.
- Bruk hansker gjennom hele prosedyren. Bytt hansker straks hvis de kommer i kontakt med prøven.
- Lukk spinn-søylen (PRC, PSC) før den plasseres i mikrosentrifugen. Sentrifuger som beskrevet i prosedyren.
- Åpne bare én spinn-søyle (PRC, PSC) om gangen, og vær forsiktig så du unngår å generere aerosoler.
- For effektiv parallell behandling av flere prøver kan du fylle et stativ med reagensrør (PT) som spinn-søylene (PRC, PC) kan overføres til etter sentrifugering. Kast de brukte reagensrørene (PT) som inneholder gjennomstrømningsfraksjonen, og plasser de nye reagensrørene (PT) som inneholder spinn-søylar (PRC, PSC) direkte i mikrosentrifugen.

Dette må du gjøre før du starter

- Blod må samles i PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) i henhold til instruksjonene i *håndboken for PAXgene Blood RNA Tube*. Om nødvendig kan du se Vedlegg C (side 66) for anbefalinger om håndtering av PAXgene Blood RNA Tubes (BRT).
- Pass på at PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) inkuberes i minst 2 timer ved romtemperatur etter at blodet er tatt, for å sikre riktig lysering av blodcellene. Inkubasjon av PAXgene Blood RNA Tube (BRT) over natten kan føre til bedre utbytte. Hvis PAXgene Blood RNA Tube (BRT) ble oppbevart ved 2–8 °C, –20 °C eller –70 °C etter at blodet er tatt, må det først nå romtemperatur og deretter oppbevares ved romtemperatur i 2 timer før prosedyren startes.
- Les sikkerhetsinformasjonen på side 10.
- Les retningslinjene om håndtering av RNA (Vedlegg A, side 64).
- Pass på at instrumentene, som pipetter og rister/inkubator, er sjekket og kalibrert regelmessig i henhold til produsentens anbefalinger.
- En rister/inkubator trengs til trinn 5 og 20. Still inn temperaturen på risteren/inkubatoren til 55 °C.

- Bindende buffer (BR2) kan danne et presipitat ved oppbevaring. Om nødvendig varmes den opp til 37 °C for å løse opp.
- Vaskebuffer 2 (BR4) leveres som konsentrat. Før førstegangsbruk tilsettes 4 volumer etanol (96–100 %, renhetsgrad p.a.) som vist på flasken, for å oppnå en arbeidsløsning.
- Hvis du bruker RNase-Free DNase Set for første gang, klargjør DNase I-arbeidsløsning. Oppløs det faste DNase I (RNFD; 1500 Kunitz-enheter)\* i 550 µl av DNase resuspensjonsbuffer (DRB) som leveres med settet. Pass på at ingen DNase I (RNFD) går tapt når flasken åpnes. Ikke vorteksblend rekonstituert DNase I (RNFD). DNase I er spesielt følsomt for fysisk denaturering. Blanding skal kun utføres ved forsiktig invertering av røret.
- Gjeldende data viser at rekonstituert DNase I (RNFD) kan oppbevares ved 2–8 °C i opptil 6 uker. For langsiktig oppbevaring av DNase I (RNFD) fjerner du arbeidsløsningen fra glassflasken, fordeler den i enkelaliquoter (bruk 1,5 ml-mikrosentrifugerør [MCT] som følger med kitet – det er nok til 5 aliquoter) og oppbevarer disse ved –20 °C i opptil 9 måneder. Tinte aliquoter kan oppbevares ved 2–8 °C i opptil 6 uker. Ikke frys aliquotene på nytt etter tining.
- Når du rekonstituerer og aliquoterer DNase I (RNFD), pass på at du følger retningslinjene for håndtering av RNA (Vedlegg A, side 64).

\* Kunitz-enheter er enhetene som vanligvis brukes til å måle DNase I, definert som mengden av DNase I som fører til en økning i  $A_{260}$  på 0,001 per minutt per milliliter ved 25 °C, pH 5,0, med sterkt polymerisert DNA som substratet (Kunitz, M. (1950) J. Gen. Physiol. **33**, 349 og 363).

## Prosedyre

1. Sentrifuger PAXgene Blood RNA Tube (BRT) i 10 minutter ved 3000–5000 x g med en svingbar rotor.



Pass på at blodprøven har vært inkubert i PAXgene Blood RNA Tube (BRT) i minst 2 timer ved romtemperatur (15–25 °C) for å oppnå fullstendig lysering av blodceller.



Rotoren må inneholde røradaptere for rør med rund bunn. Hvis andre typer røradaptere brukes, kan rørene knuses under sentrifugering.

2. Fjern supernatanten ved å dekantere eller pipettere. Tilsett 4 ml RNase-fritt vann (RNFW) til pelleten, og lukk røret med en fersk, sekundær BD Hemogard-hette (følger med kitet).

Hvis supernatanten er dekantert, pass på så ikke pelleten forstyrres, og tørk av kanten på røret med rent tørkepapir.

3. Vorteksbland til pelleten er synlig oppløst, og sentrifuger i 10 minutter ved 3000–5000 x g med en svingbar rotor. Ta av og kast hele supernatanten.

Smårester som er liggende igjen etter supernatanten etter vorteksblending, men før sentrifugering, vil ikke påvirke prosedyren.



Ufullstendig fjerning av supernatant vil hemme lyseringen og fortynne lysatet, og vil derfor påvirke forholdene for binding av RNA til PAXgene-membranen.

4. Tilsett 350 µl resuspensjonsbuffer (BR1), og vorteksbland til pelleten er synlig oppløst.
5. Pipetter prøven i et 1,5 ml mikrosentrifugerør (MCT). Tilsett 300 µl bindingsbuffer (BR2) og 40 µl proteinase K (PK). Voreksbland i 5 sekunder, og inkuber i 10 minutter ved 55 °C med en rister/inkubator ved 400–1400 o/min. Etter inkubasjon stilles inn temperaturen på risteren/inkubatoren til 65 °C (for trinn 20).



Ikke bland bindingsbuffer (BR2) og proteinase K (PK) sammen før de tilsettes i prøven.

6. Pipetter lysatet direkte i en PAXgene Shredder spinn-søyle (PSC; lilla) plassert i et 2 ml reagensrør (PT), og sentrifuger i 3 minutter ved maks hastighet (men ikke mer enn 20 000 x g).



Pipetter lysatet forsiktig i spinn-søylen (PSC), og sjekk visuelt at alt lysatet er overført til spinn-søylen (PSC).

For å forhindre at søylene (PSC) og rørene (PT) skades, ikke overstig 20 000 x g.



Noen prøver kan strømme gjennom PAXgene Shredder spinn-søylen (PSC) uten sentrifugering. Dette skyldes lav viskositet for noen prøver og bør ikke oppfattes som en indikasjon på produktdefekt.

7. Overfør forsiktig hele supernatanten av gjennomstrømningsfraksjonen til et nytt 1,5 ml mikrosentrifugerør (MCT) uten å forstyrre pelleten i reagensrøret.
8. Tilsett 350 µl etanol (96–100 %, renhetsgrad p.a.). Vorteksbland og sentrifuger en kort stund (1–2 sekunder ved 500–1000 x g) for å fjerne dråper fra innsiden av rørlokket.



Det må ikke sentrifugeres i mer enn 1–2 sekunder, da dette kan resultere i pelletering av nukleinsyrer og lavere utbytte av totalt RNA.

9. Pipetter 700 µl prøve i PAXgene RNA spinn-søylen (PRC; rød) i et 2 ml reagensrør (PT), og sentrifuger i 1 minutt ved 8000–20 000 x g. Plasser spinn-søylen (PRC) i et nytt 2 ml reagensrør (PT), og kast det gamle reagensrøret (PT) som inneholder gjennomstrømningsfraksjonen.
10. Pipetter resten av prøven i PAXgene RNA spinn-søylen (PRC), og sentrifuger i 1 minutt ved 8000–20 000 x g. Plasser spinn-søylen (PRC) i et nytt 2 ml reagensrør (PT), og kast det gamle reagensrøret (PT) som inneholder gjennomstrømningsfraksjonen.



Pipetter prøven forsiktig i spinn-søylen (PRC), og sjekk visuelt at prøven er overført helt til spinn-søylen (PRC).

11. Pipetter 350 µl vaskebuffer 1 (BR3) i PAXgene RNA spinn-søylen (PRC). Sentrifuger i 1 minutt ved 8000–20 000 x g. Plasser spinn-søylen (PRC) i et nytt 2 ml reagensrør (PT), og kast det gamle reagensrøret (PT) som inneholder gjennomstrømningsfraksjonen.

12. Tilsett 10 µl DNase I (RNFD)-arbeidsløsning i 70 µl DNA-nedbrytningsbuffer (RDD) i et 1,5 ml mikrosentrifugerør (MCT). Blant ved å slå forsiktig på røret, og sentrifuger kort for å samle resterende væske fra sidene av røret.

Hvis du for eksempel behandler 10 prøver, tilsett 100 µl DNase I (RNFD)-arbeidsløsning til 700 µl DNA-nedbrytningsbuffer (RDD). Bruk 1,5 ml-mikrosentrifugerørene (MCT) som følger med kitet.



DNase I er spesielt følsomt for fysisk denaturering. Blanding skal kun utføres ved å slå forsiktig på røret. Ikke bruk vorteksmikser.

13. Pipetter DNase I (RNFD)-inkubasjonsblandingen (80 µl) direkte på PAXgene RNA spinn-søylens (PRC) membran, og plasser på benken (20–30 °C) i 15 minutter.



Pass på at DNase I (RNFD)-inkubasjonsblandingen plasseres direkte på membranen. DNase-nedbrytningen vil være ufullstendig hvis en del av blandingen tilsettes og blir værende på veggene eller O-ringen til spinn-søylen (PRC).

14. Pipetter 350 µl vaskebuffer 1 (BR3) i PAXgene RNA spinn-søylen (PRC), og sentrifuger i 1 minutt ved 8000–20 000 x g. Plasser spinn-søylen (PRC) i et nytt 2 ml reagensrør (PT), og kast det gamle reagensrøret (PT) som inneholder gjennomstrømningsfraksjonen.

15. Pipetter 500 µl vaskebuffer 2 (BR4) i PAXgene RNA spinn-søylen (PRC), og sentrifuger i 1 minutt ved 8000–20 000 x g. Plasser spinn-søylen (PRC) i et nytt 2 ml reagensrør (PT), og kast det gamle reagensrøret (PT) som inneholder gjennomstrømningsfraksjonen.



Vaskebuffer 2 (BR4) leveres som konsentrat. Pass på at etanol er tilsatt i vaskebufferen 2 (BR4) før bruk (se "Ting du må gjøre før du starter", side 49).

16. Tilsett ytterligere 500 µl vaskebuffer 2 (BR4) i PAXgene RNA spinn-søylen (PRC).

Sentrifuger i 3 minutter ved 8000–20 000 x g.

17. Kast reagensrøret (PT) som inneholder gjennomstrømningsfraksjonen, og plasser PAXgene RNA spinn-søylen (PRC) i et nytt 2 ml reagensrør (PT). Sentrifuger i 1 minutt ved 8000–20 000 x g.

18. Kast reagensrøret (PT) som inneholder gjennomstrømningsfraksjonen. Plasser PAXgene RNA spinn-søylen (PRC) i et 1,5 ml mikrosentrifugerør (MCT), og pipetter 40 µl elueringsbuffer (BR5) direkte på PAXgene RNA spinn-søylemembranen (PRC). Sentrifuger i 1 minutt ved 8000–20 000 x g for å eluere RNA.

Det er viktig å fukte hele membranen med elueringsbuffer (BR5) for å oppnå maksimal elueringseffektivitet.

19. Gjenta elueringstrinnet (trinn 18) som beskrevet, med 40 µl elueringsbuffer (BR5) og det samme mikrosentrifugerøret (MCT).

20. Inkuber eluatet i 5 minutter ved 65 °C i risteren/inkubatoren (fra trinn 5) uten å riste. Avkjøl straks på is etter inkubasjon.

Denne inkubasjonen ved 65 °C denaturerer RNA for nedstrømsapplikasjoner. Ikke overstig inkubasjonstiden eller temperaturen.

21. Hvis RNA-prøvene ikke brukes straks, oppbevares de ved –20 °C eller –70 °C.

Siden RNA forblir denaturet etter gjentatt frysing og tining, er det ikke nødvendig å gjenta ved 65 °C. Hvis du bruker RNA-prøver i en diagnostisk analyse, følg produsentens anvisninger.

For nøyaktig kvantifisering av RNA ved absorbans ved 260 nm anbefaler vi at prøver fortynnes med 10 mM Tris-HCl, pH 7,5. \* Hvis du fortynner prøven i RNase-fritt vann, kan dette føre til unøyaktig lave verdier.

Nullstill spektralfotometeret ved hjelp av en blank prøve bestående av det samme forholdet av elueringsbuffer (BR5) og Tris-HCl-buffer som i prøvene som skal måles. Elueringsbuffer (BR5) har høy absorbans ved 220 nm, noe som kan føre til høye bakgrunnsabsorbansnivåer hvis spektralfotometeret ikke er riktig nullstilt.

**Merk:** For kvantifisering i Tris-HCl-buffer brukes forholdet

$A_{260} = 1 \Rightarrow 44 \mu\text{g/ml}$ . Se Vedlegg B, side 65.

\* Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablad (SDS) som leveres av leverandøren av produktet, hvis du ønsker mer informasjon.

# Protokoll: Automatisk rensing av totalt RNA fra humant fullblod samlet i PAXgene Blood RNA Tubes (BRT)

## Viktige punkter før du starter

- Pass på at esken er intakt og uskadet, og at bufferne ikke har lekket. Ikke bruk et kit som er skadet.
- Når du bruker pipette, pass på at den er stilt til riktig volum, og at væsken er forsiktig og fullstendig aspirert og dispensert.
- For å unngå å overføre prøver til feil rør eller forbruksvarer av plast, pass på at alle reagensrør (PT), mikrosentrifugerør (MCT) og rotoradaptere er riktig merket med permanent penn. Merk lokket og hoveddelen på hvert mikrosentrifugerør (MCT), hoveddelen på hvert reagensrør (PT) og den utvendige veggen av hver rotoradapter.
- Hvis prøver og buffere søles under prosedyren, kan det redusere RNA-utbyttet og -renheten.
- Med mindre noe annet er oppgitt, skal alle trinn i denne protokollen, inkludert sentrifugeringstrinn, utføres ved romtemperatur (15–25 °C).

På grunn av sensitiviteten til nukleinsyreforsterkningsteknologi, er det viktig å følge disse forholdsreglene ved håndtering av prøver for å unngå krysskontaminering:

- Pipetter prøven forsiktig inn i bunnen av reagensrøret (PT), uten å fukte kanten.
- Skift alltid pipettespiss mellom væskeoverføringer. Bruk pipettespiss med aerosolbarriere.
- Unngå at spinn-søylemembranen (PRC, PSC) kommer i kontakt med pipettespissen.

- Etter vorteksblending eller oppvarming av et mikrosentrifugerør (MCT) skal det sentrifugeres kort for å fjerne dråpene fra innsiden av lokket.
- Bruk hansker gjennom hele prosedyren. Bytt hansker straks hvis de kommer i kontakt med prøven.

Dette må du gjøre før du starter





- Blod må samles i PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) i henhold til instruksjonene i *håndboken for PAXgene Blood RNA Tube*. Om nødvendig kan du se Vedlegg C (side 66) for anbefalinger om håndtering av PAXgene Blood RNA Tubes (BRT).
- Pass på at PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) inkuberes i minst 2 timer ved romtemperatur etter at blodet er tatt, for å sikre riktig lysering av blodcellene. Inkubasjon av PAXgene Blood RNA Tube (BRT) over natten kan føre til bedre utbytte. Hvis PAXgene Blood RNA Tube (BRT) ble oppbevart ved 2–8 °C, –20 °C eller –70 °C etter at blodet er tatt, må det først nå romtemperatur og deretter oppbevares ved romtemperatur i 2 timer før prosedyren startes.
- Les sikkerhetsinformasjonen på side 10.
- Les "Viktige merknader", side 37.
- Les retningslinjene om håndtering av RNA (Vedlegg A, side 64).
- Les *brukerhåndboken for QIAcube* og eventuell tilleggsinformasjon som er levert med QIAcube, og vær spesielt oppmerksom på sikkerhetsinformasjon.
- Pass på at instrumentene, som pipetter og QIAcube, er sjekket og kalibrert regelmessig i henhold til produsentens anbefalinger.
- Bindende buffer (BR2) kan denne et presipitat ved oppbevaring. Om nødvendig varmes den opp til 37 °C for å løse opp.
- Vaskebuffer 2 (BR4) leveres som konsentrat. Før førstegangsbruk tilsettes 4 volumer etanol (96–100 %, renhetsgrad p.a.) som vist på flasken, for å oppnå en arbeidsløsning.



- Hvis du bruker RNase-Free DNase Set for første gang, klargjør DNase I-arbeidsløsning. Oppløs det faste DNase I (RNFD; 1500 Kunitz-enheter)\* i 550 µl av DNase resuspensjonsbuffer (DRB) som leveres med settet. Pass på at ingen DNase I (RNFD) går tapt når flasken åpnes. Ikke vorteksblend rekonstituert DNase I (RNFD). DNase I er spesielt følsomt for fysisk denaturering. Blanding skal kun utføres ved forsiktig invertering av røret.
- Gjeldende data viser at rekonstituert DNase I (RNFD) kan oppbevares ved 2–8 °C i opptil 6 uker. For langsiktig oppbevaring av DNase I (RNFD) fjerner du arbeidsløsningen fra glassflasken, fordeler den i enkelaliquoter (bruk 1,5 ml-mikrosentrifugerør [MCT] som følger med kitet – det er nok til 5 aliquoter) og oppbevarer disse ved –20 °C i opptil 9 måneder. Tinte aliquoter kan oppbevares ved 2–8 °C i opptil 6 uker. Ikke frys aliquotene på nytt etter tining.
- Når du rekonstituerer og aliquoterer DNase I (RNFD), pass på at du følger retningslinjene for håndtering av RNA (Vedlegg A, side 64).
- Installer riktig risteradapter (følger med QIAcube, bruk adapteren til 2 ml Safe-Lock-rør, merket med "2"), og plasser risterstativet øverst på adapteren.
- Sjekk avfallsskuffen, og tøm den om nødvendig.
- Installer protokollene hvis det ikke allerede er gjort for tidligere kjøring. Installer både "PAXgene Blood RNA Part A"- og "PAXgene Blood RNA Part B"-protokollene. Se "Installere protokoller på QIAcube", side 37.

\* Kunitz-enheter er enhetene som vanligvis brukes til å måle DNase I, definert som mengden av DNase I som fører til en økning i  $A_{260}$  på 0,001 per minutt per milliliter ved 25 °C, pH 5,0, med sterkt polymerisert DNA som substrat (Kunitz, M. (1950) J. Gen. Physiol. **33**, 349 og 363).

## Prosedyre

1. Lukk døren til QIAcube, og slå på QIAcube med strømbryteren (se figur 15 side 38).  
En pipelyd avgis, og oppstartskjermbildet vises. Instrumentet utfører initialiseringstester automatisk.
2. Åpne døren til QIAcube, og last de nødvendige reagensene og plastdelene i QIAcube.  
Se "Laste QIAcube", side 39.  
For å spare tid kan lasting utføres under et av eller begge sentrifugeringstrinnene på 10 minutter (trinn 3 og 5).
3. Sentrifuger PAXgene Blood RNA Tube (BRT) i 10 minutter ved 3000–5000 x g med en svingbar rotor.
  -  Pass på at blodprøven har vært inkubert i PAXgene Blood RNA Tube (BRT) i minst 2 timer ved romtemperatur (15–25 °C), for å oppnå fullstendig lysering av blodceller.
  -  Rotoren må inneholde røradaptore for rør med rund bunn. Hvis andre typer røradaptore brukes, kan rørene knuses under sentrifugering.
4. Fjern supernatanten ved å dekantere eller pipettere. Tilsett 4 ml RNase-fritt vann (RNFW) til pelleten, og lukk røret med en fersk, sekundær BD Hemogard-hette (følger med kitet).  
Hvis supernatanten er dekantert, pass på så ikke pelleten forstyrres, og tørk av kanten på røret med rent tørkepapir.
5. Vorteksblend til pelleten er synlig oppløst, og sentrifuger i 10 minutter ved 3000–5000 x g med en svingbar rotor. Ta av og kast hele supernatanten.  
Smårester som er liggende igjen etter supernatanten etter vorteksblending, men før sentrifugering, vil ikke påvirke prosedyren.
  -  Ufullstendig fjerning av supernatant vil hemme lyseringen og fortynne lysatet, og vil derfor påvirke forholdene for binding av RNA til PAXgene-membranen.
6. Tilsett 350 µl resuspensjonsbuffer (BR1), og vorteksblend til pelleten er synlig oppløst.
7. Pipetter prøven i et 2 ml reagensrør (PT).
  -  Bruk 2 ml-reagensrørene (PT) som er inkludert i PAXgene Blood RNA Kit.

8. Last de åpne reagensrørene (PT) som inneholder prøven, i QIAcube-risteren (se figur 17, side 41). Prøveposisjonene er nummerert for å gjøre det enklere å laste. Sett inn risterstativpluggen (følger med QIAcube) i plassene i kanten av risterstativet ved siden av hvert reagensrør. Dette aktiverer deteksjon av prøver under lastkontrollen.



Pass på at riktig risteradapter (risteradapter, 2 ml Safe-Lock-rør, merket med "2", følger med QIAcube) er installert.



Hvis det behandles færre enn 12 prøver, pass på at du laster risterstativet som vist i figur 21, side 45. Én eller 11 prøver kan ikke behandles.

9. Lukk døren til QIAcube-instrumentet (se figur 15, side 38).

10. Velg protokollen "PAXgene Blood RNA Part A", og start protokollen.

Følg instruksjonene som står på berøringsskjermen på QIAcube.



Pass på at begge programdeler (del A og del B) er installert på QIAcube (se "Installere protokoller på QIAcube", side 37).



QIAcube utfører lastkontroller for prøver, spisser, rotoadaptere og reagensflasker.

11. Etter at "PAXgene Blood RNA Part A"-protokollen er ferdig, åpne døren til QIAcube-instrumentet (se figur 15, side 38). Ta ut og kast PAXgene RNA spinn-søylene (PRC) fra rotoradapterne og de tomme reagensrørene (PT) fra risteren.



Under kjøringen overfører instrumentet spinn-søylene fra rotoradapterens posisjon 1 (lokkposisjon L1) til rotoradapterposisjon 3 (lokkposisjon L2) (se figur 19, side 43).

12. Lukk lokkene på alle 1,5 ml-mikrosentrifugerørene (MCT) som inneholder rensed RNA i rotoradapterne (posisjon 3, lokkposisjon L3, se figur 19, side 43). Overfør 1,5 ml-mikrosentrifugerørene (MCT) til QIAcube-risteradapteren (se figur 17, side 41).

13. Lukk døren til QIAcube-instrumentet (se figur 15, side 38).

14. Velg protokollen "PAXgene Blood RNA Part B", og start protokollen.

Følg instruksjonene som står på berøringsskjermen på QIAcube.



Dette programmet inkuberer prøvene ved 65 °C og denaturerer RNA for nedstrømsapplikasjoner. Ikke utelat dette trinnet selv om nedstrømsapplikasjonen inkluderer et varmedenatureringstrinn. Det er avgjørende med tilstrekkelig RNA-denaturering for maksimal effektivitet i nedstrømsapplikasjoner.

15. Etter at "PAXgene Blood RNA Part B"-programmet er ferdig, åpne døren til QIAcube-instrumentet (se figur 15, side 38). Mikrosentrifugerørene (MCT) som inneholder rensed RNA, skal straks plasseres på is.



ADVARSEL: Varm overflate. Risteren kan nå temperaturer på opptil 70 °C (158 °F). Ikke rør den når den er varm.



Ikke la rensed RNA bli værende i QIAcube. Renset RNA kan degraderes, siden prøvene ikke er nedkjølt. Det anbefales derfor ikke å kjøre prøveklargjøringskjøringer over natten uten tilsyn.

16. Hvis RNA-prøvene ikke brukes straks, oppbevares de ved –20 °C eller –70 °C.

Siden RNA forblir denaturet etter gjentatt frysing og tining, er det ikke nødvendig å gjenta varmeinkubasjonsprotokollen ("PAXgene Blood RNA Part B"). Hvis du bruker RNA-prøver i en diagnostisk analyse, følg produsentens anvisninger.

For nøyaktig kvantifisering av RNA ved absorpsjonsmåling ved 260 nm, anbefaler vi at prøver fortynnes i 10 mM Tris-HCl, pH 7,5. \* Hvis du fortynner prøven i RNase-fritt vann, kan dette føre til unøyaktig lave verdier.

Nullstill spektralfotometeret ved hjelp av en blank prøve bestående av det samme forholdet av elueringsbuffer (BR5) og Tris-HCl-buffer som i prøvene som skal måles. Elueringsbuffer (BR5) har høy absorpsjon ved 220 nm, noe som kan føre til høye bakgrunnsabsorpsjonsnivåer hvis spektralfotometeret ikke er riktig nullstilt.



For kvantifisering i Tris-HCl-buffer brukes forholdet

$A_{260} = 1 = > 44 \mu\text{g/ml}$ . Se Vedlegg B, side 65.

\* Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablad (SDS) som leveres av leverandøren av produktet, hvis du ønsker mer informasjon.

17. Fjern reagensflaskestativet fra QIAcube-arbeidsbordet (se figur 17, side 41), og lukk alle flasker med riktig merkede lokk. Buffer kan lagres i flasker ved romtemperatur (15–25 °C) i opptil 3 måneder. Ta ut og kast resterende reagenser i reagensrørene (PT) i plassene på mikrosentrifugerørene i QIAcube (se figur 17, side 41). Ta ut og kast rotoradaptere fra sentrifugen (se figur 17, side 41). Tøm avfallsskuffen i QIAcube (se figur 15, side 38). Lukk døren til QIAcube, og slå av instrumentet med strømbryteren (se figur 15 side 38).

# Feilsøkningsveiledning

Denne feilsøkningsveiledningen kan være nyttig for å løse problemer som kan oppstå. Hvis du trenger mer informasjon, kan du se siden med ofte stilte spørsmål på vårt tekniske supportcenter: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Forskerne ved QIAGENs tekniske avdelinger er alltid klare til å svare på eventuelle spørsmål, enten det dreier seg om innholdet og protokollene i denne håndboken eller prøve- og analyseteknologi (du finner kontaktinformasjon på siste side eller ved å gå til [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Kommentarer og forslag

---

### RNA degradert

#### RNase-kontaminering



Pass på så det ikke innføres noen RNaser i reagensene under prosedyren eller senere håndtering (se Vedlegg A, side 64).

### Lavt RNA-utbytte

- a) Mindre enn 2,5 ml blod tappet i PAXgene Blood RNA Tube (BRT)



Pass på at 2,5 ml blod er samlet i PAXgene Blood RNA Tube (BRT, se *håndboken for PAXgene Blood RNA Tube*).

- b) RNA-konsentrasjon målt i vann



RNA må fortynnes i 10 mM Tris-HCl, pH 7,5\* for nøyaktig kvantifisering (se Vedlegg B, side 65).



- c) Cellerester overført til PAXgene RNA spinn-søyle (PRC) i trinn 9 og 10 i den manuelle protokollen





Ikke overfør store partikler ved pipettering av supernatanten i trinn 7 av den manuelle protokollen (overføring av smårester vil ikke påvirke prosedyren).

\* Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablad (SDS) som leveres av leverandøren av produktet, hvis du ønsker mer informasjon.

## Kommentarer og forslag

- d) Supernatanten ikke helt fjernet i trinn 3  Pass på at hele supernatanten er fjernet. Hvis supernatanten er dekantert, fjern dråpene fra kanten av PAXgene Blood RNA Tube (BRT) ved hjelp av tørkepapir. Bruk riktige forholdsregler for å forhindre krysskontaminasjon.
- e) Etter innsamling i PAXgene Blood RNA Tube (BRT) inkuberes blodet i mindre enn 2 timer  Inkuber blodet i PAXgene Blood RNA Tube (BRT) i minst 2 timer etter innsamling.

### Lav $A_{260}/A_{280}$ -verdi

- a) Vann brukt til å fortynne RNA for  $A_{260}/A_{280}$ -måling  Bruk 10 mM Tris-HCl, pH 7,5, for å fortynne RNA før måling av renhet\* (se Vedlegg B, side 65).
- b) Spektralfotometeret ikke riktig nullstilt  Nullstill spektralfotometeret ved hjelp av en blank prøve bestående av det samme forholdet av elueringsbuffer (BR5) og 10 mM Tris-HCl, pH 7,5, som i prøvene som skal måles. Elueringsbuffer (BR5) har høy absorpsjon ved 220 nm, noe som kan føre til høye bakgrunnsabsorpsjonsnivåer hvis spektralfotometeret ikke er riktig nullstilt.

### Instrumentfeil

- QIAcube ikke betjent korrekt Les *brakerhåndboken for QIAcube*, og vær spesielt oppmerksom på avsnittet Feilsøking. Pass på at QIAcube blir riktig vedlikeholdt, som beskrevet i *brakerhåndboken for QIAcube*.

\* Wilfinger, W.W., Mackey, M., and Chomczynski, P. (1997) Effect of pH and ionic strength on the spectrophotometric assessment of nucleic acid purity. *BioTechniques* **22**, 474.

# Vedlegg A: Generelle kommentarer om håndtering av RNA

## Håndtere RNA



Ribonukleaser (RNaser) er svært stabile og aktive enzymer som vanligvis ikke trenger kofaktorer for å fungere. Siden RNaser er vanskelige å inaktivere og selv svært små mengder er nok til å nedbryte RNA, skal det ikke brukes plast- eller glassartikler uten først å eliminere mulig RNase-kontaminasjon. Du bør være svært nøye med å unngå at RNase utilsiktet introduseres i RNA-prøven under eller etter renseprosedyren. For å opprette og vedlikeholde et RNase-fritt miljø må du være nøye under forhåndsbehandling og bruk av engangs- og ikke-engangskar og løsninger når du jobber med RNA.

## Generell håndtering



Riktig mikrobiologisk, aseptisk teknikk skal alltid brukes ved arbeid med RNA. Det er bakterier og muggsopper på hender og støvpartikler, og disse er de vanligste kildene til RNase-kontaminasjon. Bruk alltid lateks- eller vinylhansker ved håndtering av reagenser og RNA-prøver for å forhindre RNase-kontaminasjon fra overflaten av huden eller fra støvete laboratorieutstyr. Bytt hansker ofte, og hold rørene lukket når det er mulig. Oppbevar renset RNA på is når alikvoter pipetteres for nedstrømsapplikasjoner.

Protokoller for fjerning av RNase-kontaminasjon fra glassartikler og løsninger står i generelle veiledninger for molekylær biologi, for eksempel Sambrook, J. og Russell, D. W. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.



# Vedlegg B: Kvantifisering og bestemmelse av kvalitet for totalt RNA

## Kvantifisering av RNA

Konsentrasjonen av RNA bør bestemmes ved å måle absorbansen ved 260 nm ( $A_{260}$ ) i et spektralfotometer. For å sikre signifikans skal avlesningene være i spektralfotometerets lineære område. En absorbans på 1 enhet ved 260 nm tilsvarer 44 µg RNA per ml ( $A_{260} = 1 \Rightarrow 44 \text{ µg/ml}$ ). Dette forholdet er bare gyldig for målinger i 10 mM Tris-HCl, \* pH 7,5. Hvis det er nødvendig å fortynne RNA-prøven, må dette derfor utføres i 10 mM Tris-HCl. Som vist nedenfor (se "Renhet av RNA", side 66) gir forholdet mellom absorbansverdiene ved 260 og 280 nm et estimat av RNA-renhet. Pass på at kyvettene er RNase-frie ved måling av RNA-prøver. Nullstill spektralfotometeret ved hjelp av en blank prøve bestående av det samme forholdet av elueringsbuffer (BR5) og Tris-HCl-buffer som i prøvene som skal måles. Elueringsbuffer (BR5) har høy absorbans ved 220 nm, noe som kan føre til høye bakgrunnsabsorbansnivåer hvis spektralfotometeret ikke er riktig nullstilt. Et eksempel på beregningen involvert i kvantifisering av RNA vises nedenfor.

Volum av RNA-prøve	=	80 µl
Fortynning (1/15)	=	10 µl RNA-prøve + 140 µl 10 mM Tris-HCl, pH 7,5
Mål absorbans for fortynnet prøve i en kyvette (RNase-fri).		
$A_{260}$	=	0,3
Konsentrasjon av prøve	=	$44 \times A_{260} \times \text{fortynningsfaktor}$
	=	$44 \times 0,3 \times 15$
	=	198 µg/ml
Totalt utbytte	=	konsentrasjon x volum av prøven i milliliter
	=	$198 \text{ µg/ml} \times 0,08 \text{ ml}$
	=	15,8 µg RNA

\* Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablad (SDS) som leveres av leverandøren av produktet, hvis du ønsker mer informasjon.

## Renhet av RNA

Forholdet mellom avlesningene ved 260 nm og 280 nm ( $A_{260}/A_{280}$ ) gir et estimat av renheten av RNA når det gjelder kontaminanter som absorberes i UV, for eksempel protein.  $A_{260}/A_{280}$ -forholdet påvirkes imidlertid i stor grad av pH. Lavere pH fører til et lavere  $A_{260}/A_{280}$ -forhold og redusert sensitivitet for proteinkontaminering.\* For nøyaktige verdier anbefaler vi å måle absorbans i 10 mM Tris-HCl, pH 7,5. Rent RNA har et  $A_{260}/A_{280}$ -forhold på 1,8–2,2 i 10 mM Tris-HCl, pH 7,5. Nullstill spektralfotometeret ved hjelp av en blank prøve bestående av det samme forholdet av elueringsbuffer (BR5) og Tris-HCl-buffer som i prøvene som skal måles. Elueringsbuffer (BR5) har høy absorbans ved 220 nm, noe som kan føre til høye bakgrunnsabsorbansnivåer hvis spektralfotometeret ikke er riktig nullstilt.

## Vedlegg C: Håndtere PAXgene Blood RNA Tubes (BRT)



Følgende anbefalinger fra BD kan være nyttige ved håndtering av PAXgene Blood RNA Tubes (BRT). Se *håndboken for PAXgene Blood RNA Tube* for mer informasjon om bruken av PAXgene Blood RNA Tubes (BRT).

### Instruksjoner for fjerning av BD Hemogard-hetten

1. Hold PAXgene Blood RNA Tube (BRT) i den ene hånden, med tommelen under BD Hemogard-hetten. (For ekstra stabilitet kan du legge armen på et fast underlag.) Vri BD Hemogard-hetten med den andre hånden samtidig som du skyver opp med tommelen på den andre hånden BARE TIL RØRSTOPPEREN ER LØSNET.

\* Wilfinger, W.W., Mackey, M., and Chomczynski, P. (1997) Effect of pH and ionic strength on the spectrophotometric assessment of nucleic acid purity. *BioTechniques* **22**, 474.

2. Ta bort tommelen før hetten løftes. Ikke bruk tommelen til å skyve hetten av PAXgene Blood RNA Tube (BRT). Forsiktig: Det foreligger eksponeringsfare hvis PAXgene Blood RNA Tube (BRT) inneholder blod. For å bidra til å forhindre skade når hetten fjernes, er det viktig at tommelen som du bruker til å skyve hetten oppover, ikke er i kontakt med PAXgene Blood RNA Tube (BRT) når BD Hemogard-hetten er løsnet.
3. Løft hetten av PAXgene Blood RNA Tube (BRT). Hvis plastskjoldet mot formodning ikke separeres fra gummistopperen, IKKE SETT HETTEN TILBAKE. Fjern gummistopperen forsiktig fra PAXgene Blood RNA Tube (BRT).

### **Instruksjoner for innsetting av sekundær BD Hemogard-hette**

1. Sett hetten tilbake på PAXgene Blood RNA Tube (BRT).
2. Vri og trykk godt ned til stopperen sitter helt på plass. Stopperen må settes helt inn for at hetten skal sitte godt på PAXgene Blood RNA Tube under håndtering.

# Bestillingsinformasjon

Produkt	Innhold	Kat.nr.
PAXgene Blood RNA Kit (50)	50 PAXgene spinn-søyler, 50 Shredder spinn-søyler, reagensrør, RNase-fri DNase I, RNase-frie reagenser og buffere. Brukes sammen med PAXgene Blood RNA Tubes	762174
PAXgene Blood RNA Tubes (100)	100 blodsamlingsrør	762165
<b>Relaterte produkter som kan bestilles fra QIAGEN</b>		
Starter Pack, QIAcube	Pakken inneholder: reagensflaskestativer (3), stativmerkingsstrips (8), 200 µl filterspisser (1024), 1000 µl filterspisser (1024), 1000 µl filterspisser med stor åpning (1024), 30 ml reagensflasker (18), rotoradaptere (240), rotoradapterholder	990395
Filter-Tips, 1000 µl (1024)	Sterile, engangsfilterspisser, i stativ	990352
Reagent Bottles, 30 ml (6)	Reagensflasker (30 ml) med lokk, pakke med 6; til bruk med QIAcube reagensflaskestativ	990393
Rotor Adapters (10 x 24)	Til 240 klargjøringer: 240 engangsrotoradaptere, til bruk med QIAcube	990394

Reagent Bottle Rack	Stativ for 6 x 30 ml reagensflasker på QIAcube-arbeidsbordet	990390
Rotor Adapter Holder	Holder for 12 engangsrotoradaptere, til bruk med QIAcube	990392

### Relaterte produkter som kan bestilles fra BD\*

Blood Collection Set	BD Vacutainer® Safety-Lok™ 6 Blood Collection Set: 21 G, 0,75 tommers (0,8 x 19 mm) nål, 12 tommers (305 mm) slange med luer-adapter; 50 per eske, 200 per kasse	367286
BD Vacutainer One-Use Holder	Kasse bare til 13 mm og 16 mm diameter, 1000/kasse	364815
BD Vacutainer Plus Serum Tubes	13 x 75 mm 4,0 ml trekk med Red BD Hemogard-hette og papiretikett; 100/eske, 1000/kasse	368975

\* Dette blodinnsamlingstilbehøret representerer typiske produkter som kan brukes med PAXgene Blood RNA Tubes (BRT). Hvis du vil ha mer informasjon om dette tilbehøret, bl.a. hvordan det skal bestilles, se [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com).

Hvis du ønsker oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, kan du se i den aktuelle håndboken eller bruksanvisningen for PreAnalytiX- eller QIAGEN-kitet. Håndbøker og bruksanvisninger for PreAnalytiX- og QIAGEN-kit er tilgjengelige på [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com) og [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan leveres fra PreAnalytiXs tekniske tjenester.

# Endringshistorikk for håndbok

Dokument og revisjon	Endringer	Dato
HB-0101-004, R2	Endringer for å overholde GHS-bestemmelser gjennom hele dokument	Juni 2015
HB-0101-005, R3	Ny mal, revideringer av automatisk protokoll og ytelsesdata, oppdatering av sikkerhetsinformasjon for å overholde GHS-bestemmelser, endringer i instrumentdetaljer og erklæring om produktbruksbegrensninger.	Februar 2019
HB-0101-006, R3	Retting av navn på kit i tabellen over kitets innhold, side 5.	Januar 2020

## PreAnalytiX Worldwide

PreAnalytiX-produkter er distribuert av QIAGEN og BD-selskaper

Australia • Orders 03 9840 9800 • Fax 03 9840 9888 • Technical 1 800 243 066  
Austria • Orders 0800 28 10 10 • Fax 0800 28 10 19 • Technical 0800 28 10 11  
Belgium • Orders 0800 79612 • Fax 0800 79611 • Technical 0800 79556  
Brazil • Orders 0800 557779 • Fax 55 11 5079 4001 • Technical 0800 557779  
Canada • Orders 800 572 9613 • Fax 800 713 5951 • Technical 800 DNA-PREP (800 362 7737)  
China • Orders 0086 21 3865 3865 • Fax 0086 21 3865 3965 • Technical 800 988 0325, 800 988 0327  
Denmark • Orders 80 885945 • Fax 80 885944 • Technical 80 885942  
Finland • Orders 0800 914416 • Fax 0800 914415 • Technical 0800 914413  
France • Orders 01 60 920 926 • Fax 01 60 920 925 • Technical 01 60 920 930 • Offers 01 60 920 928  
Germany • Orders 02103 29 12000 • Fax 02103 29 22000 • Technical 02103 29 12400  
Hong Kong • Orders 800 933 965 • Fax 800 930 439 • Technical 800 930 425  
Ireland • Orders 1800 555 049 • Fax 1800 555 048 • Technical 1800 555 061  
Italy • Orders 02 33430411 • Fax 02 33430426 • Technical 800 787980  
Japan • Telephone 03 5547 0811 • Fax 03 5547 0818 • Technical 03 5547 0811  
Korea (South) • Orders 1544 7145 • Fax 1544 7146 • Technical 1544 7145  
Luxembourg • Orders 8002 2076 • Fax 8002 2073 • Technical 8002 2067  
Mexico • Orders 01 800 7742 639 • Fax 01 800 1122 330 • Technical 01 800 7742 639  
The Netherlands • Orders 0800 0229592 • Fax 0800 0229593 • Technical 8000 0229602  
Norway • Orders 800 18859 • Fax 800 18817 • Technical 800 18712  
Singapore • Orders 65 67775366 • Fax 65 67785177 • Technical 65 67775366  
Spain • Orders 91 630 7050 • Fax 91 630 5145 • Technical 91 630 7050  
Sweden • Orders 020 790282 • Fax 020 790582 • Technical 020 798328  
Switzerland • Orders 055 254 22 11 • Fax 055 254 22 13 • Technical 055 254 22 12  
UK • Orders 01293 422 911 • Fax 01293 422 922 • Technical 01293 422 999  
USA • Orders 800 426 8157 • Fax 800 718 2056 • Technical 800 DNA-PREP (800 362 7737)

**www.qiagen.com**

**www.PreAnalytiX.com**

Argentina, Uruguay and Paraguay • Orders 0800 444 5523  
Australia • Orders 1 800 656 100 • Fax 1 800 656 110  
Austria • Orders 43 1 7063660 • Fax 43 1 706366011  
Belgium • Orders 32 53720556 • Fax 32 53720549  
Brazil • Orders 0800 55 5654  
Canada • Orders 800 268 5430 • Fax 800 565 0897  
Denmark • Orders 45 43 43 45 66 • Fax 45 43 96 56 76  
East Europe, Middle East & Africa (EMA) • Orders 971 4 3379525 • Fax: 971 4 03379551  
Finland • Orders 358 9 88 70 780 • Fax 358 9 88 70 7816  
France • Orders 33 4 76 68 36 36  
Germany • Orders 49 6221 3050 • Fax 49 6221 305216  
Italy • Orders 39 2 48240 500 • Fax 39 2 48240 344  
The Netherlands • Orders 31 20 582 9420 • Fax 31 20 582 9421  
New Zealand • Orders 0800 572 468 • Fax 0800 572 469  
Spain • Orders 34 91 848 8104 • Fax 34 91 848 8115  
Sweden • Orders 46 8 775 51 00 • Fax 46 8 645 08 08  
Switzerland • Orders 41 61 4852224 • Fax 41 61 4852200  
UK • Orders 0800 917 8776  
USA • Orders 888 237 2762 • Fax 800 847 2220 • Technical 800 631 0174

**www.bd.com**

**www.PreAnalytiX.com**

