

TECHNISCHES HANDBUCH

Maxwell® CSC RNA Blood Kit

Gebrauchsanweisung für das Produkt
AS1410

Achtung: Kartuschen vorsichtig handhaben. Folienversiegelungen können scharfkantig sein.



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Deutschland



GEBRAUCHSANWEISUNG
FÜR DAS PRODUKT
AS1410



Überarbeitet 10/22
TM434

Maxwell® CSC RNA Blood Kit

Die gesamte technische Literatur ist unter folgender Adresse erhältlich: www.promega.com/protocols/
 Rufen Sie diese Website auf. Dort finden Sie die jeweils aktuelle Version dieses technischen Handbuchs.
 Schreiben Sie eine E-Mail an Promega Technical Services, falls Sie Fragen zur Verwendung dieses Systems haben.
 Die E-Mail-Adresse lautet: techserv@promega.com

1. Beschreibung.....	2
2. Produktkomponenten, Lagerbedingungen und Symbolerklärung	3
3. Verwendungszweck des Produkts	5
4. Anwendungstechnische Grenzen des Produkts	5
5. Bevor Sie beginnen: Vorbereitung der Lösungen.....	6
6. Aufreinigung von RNA aus frischem Vollblut in EDTA-Entnahmeröhrchen	6
6.A. Vorbereitung der Vollblutproben	7
6.B. Vorbereitung der Maxwell® CSC RNA Blood Cartridges	8
7. Gerätelauf	10
8. Nach der Aufreinigung.....	12
9. Evaluierung der analytischen Leistung	13
9.A. RNA-Quantität- und -Qualität	13
9.B. RNA-Amplifizierbarkeit	14
9.C. Reproduzierbarkeit	14
9.D. Inhibition (Interferierende Stoffe)	15
9.E. Kreuzkontamination	15
10. Evaluierung der klinischen Leistung	15
10.A. RNA-Quantität, -Qualität und -Amplifizierbarkeit	16
10.B. Reproduzierbarkeit	17
10.C. Kreuzkontamination	17
11. Fehlerbehebung.....	18
12. Erstellen einer ribonukleasefreien Umgebung	20
13. Literaturhinweise	20
14. Verwandte Produkte.....	21
15. Änderungsübersicht	21

Das Maxwell® CSC RNA Blood Kit ist nur in bestimmten Ländern erhältlich.

1. Beschreibung

Das Maxwell® CSC RNA Blood Kit^(a) bietet in Kombination mit den in Tabelle 1 angegebenen Maxwell® Instruments ein einfaches Verfahren zur effizienten, automatisierten Aufreinigung von RNA aus frischem (nicht tiefgefrorenem), in EDTA-Röhrchen gesammeltem humanem Vollblut. Die Maxwell® CSC Instruments wurden im Sinne maximaler Einfachheit und Zweckdienlichkeit für den Einsatz mit vorbereiteten Reagenzien-Kartuschen und zusätzlichen im Lieferumfang des Kits enthaltenen Reagenzien mit vorprogrammierten Aufreinigungsverfahren entwickelt. Die Maxwell® CSC Instruments können in ca. 60 Minuten eine bis maximal die zulässige Anzahl von Proben verarbeiten, und die aufgereinigte RNA kann direkt in einer Vielzahl von amplifikationsbasierten Folgeanwendungen, wie z. B. der RT-PCR, verwendet werden.

Tabelle 1. Unterstützte Geräte.

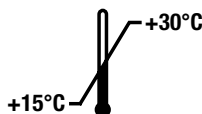
Gerät	Cat. #	Technisches Handbuch
Maxwell® CSC	AS6000	TM457
Maxwell® CSC 48	AS8000	TM623

Prinzip der Methode: Das Maxwell® CSC RNA Blood Kit reinigt die RNA mithilfe paramagnetischer Partikel auf, die für eine mobile feste Phase sorgen, mit der die RNA optimal aus der Probe gewonnen, gewaschen und aufgereinigt wird. Die Maxwell® CSC Instruments sind Geräte zur magnetischen Partikelhandhabung. Dieses System ermöglicht eine effiziente Bindung der RNA an die paramagnetischen Partikel in der ersten Kammer einer vorgefüllten Kartusche, bewegt die Probe durch die Kammern der Kartusche weiter. Durch diesen Ansatz magnetischer Bindung werden häufig auftretende Probleme in Verbindung mit Systemen für die Handhabung von Flüssigkeiten, wie z. B. verstopfte Spitzen oder Teilübertragungen von Reagenzien, vermieden, die bei anderen häufig verwendeten Systemen zu einem suboptimalen Aufreinigungsprozess führen.

2. Produktkomponenten, Lagerbedingungen und Symbolerklärung

PRODUKT	GRÖSSE	CAT.#
Maxwell® CSC RNA Blood Kit	48 Präparationen	AS1410

Für den Einsatz in der In-vitro-Diagnostik. Verwendung nur durch Fachpersonal. Ausreichend für 48 automatisierte Isolationen aus Blutproben. Die Maxwell® CSC Cartridges sind nur für den einmaligen Gebrauch bestimmt.



Beinhaltet:

- 48 Maxwell® CSC RNA Blood Cartridges
- 4 × 100 ml Lösung A
- 30 ml Lösung B
- 20 ml Lyse-Pufferlösung
- 2 Phiolen DNase I (lyophilisiert)
- 900 µl 1-Thioglycerol
- 100 µl Blauer Farbstoff
- 2 × 1 ml Proteinase K-(PK-)Lösung
- 25 ml Nuclease-Free Water
- 50 CSC/RSC-Stößel
- 50 Elutions-Gefäße (0,5 ml)

Lagerbedingungen: Entnehmen Sie das 1-Thioglycerin bei Erhalt des Kits und lagern Sie es bei +2 bis +10 °C. Lagern Sie die übrigen Kit-Komponenten bei Raumtemperatur (+15 bis +30 °C). 1-Thioglycerin kann bei Raumtemperatur (+15 bis +30 °C) gelagert werden, bei der es bis zu 9 Monaten stabil bleibt. Lagern Sie rehydrierte DNase I bei –30 bis –10 °C. Mehr als zehnmaliges Einfrieren und Wiederauftauen ist nicht zulässig.



Sicherheitshinweise: Die Kartuschen enthalten Ethanol, das entflammbar ist. 1-Thioglycerin ist toxisch. Guanidinthiocyanat und Guanidinhydrochlorid (Komponenten der Lösung B und der Lyse-Pufferlösung) sind schädlich und reizend. Tragen Sie Handschuhe und befolgen Sie die Standardsicherheitsverfahren, während Sie mit diesen Substanzen arbeiten.



Die Komponenten des Maxwell® CSC RNA Blood Kit sind für die Verwendung mit potenziell infektiösen Substanzen konzipiert. Bei der Handhabung infektiöser Substanzen ist angemessene Schutzkleidung (z. B. Handschuhe, Laborkittel und Schutzbrille) zu tragen. Benutzer sollten beim Umgang mit allen infektiösen Substanzen in Verbindung mit diesem System und bei deren Entsorgung die Richtlinien ihres Instituts befolgen.



Hinweis: Bleiche reagiert mit Ammoniumchlorid und Guanidinthiocyanat und produziert giftige Dämpfe. Ammoniumchlorid und Guanidinthiocyanat sind jeweils in Lösung B bzw. in Lösung A enthalten. Dekontaminieren Sie Abfall aus diesem Kit nicht unter Einsatz von Bleiche.



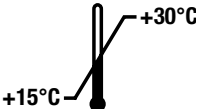















Achtung: Gehen Sie vorsichtig mit Kartuschen und geöffneten Phiolen mit lyophilisierter DNase I um; die Ränder können scharfkantig sein.

2. Produktkomponenten, Lagerbedingungen und Symbolerklärung (Fortsetzung)

Weitere Informationen: Die Komponenten des Maxwell® CSC RNA Blood Kit sind für den gemeinsamen Gebrauch geeignet und haben eine Qualitätskontrollprüfung durchlaufen. Es wird nicht empfohlen, Kit-Komponenten verschiedener Chargen miteinander zu vermischen. Verwenden Sie nur die in dem Kit enthaltenen Komponenten. Kartuschen nicht verwenden, wenn die Kartuschenversiegelung bei Erhalt nicht intakt ist. Weitere Sicherheitsinformationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt unter: **www.promega.com**

Erklärung der Symbole

Symbol	Erklärung	Symbol	Erklärung
	In-vitro-Diagnostikum		Bevollmächtigter
	Bei +15 bis +30 °C aufbewahren.		Hersteller
	Achtung		Reizend
	Gesundheitsrisiko.		Giftig
	Ätzend		Ausreichend für „n“ Tests
	Europäische Konformität		Warnung. Biogefahr.
	Warnung. Quetschgefahr.		Bestellnummer
	Chargennummer		Nicht zur Wiederverwendung

3. Verwendungszweck des Produkts

Das Maxwell® CSC RNA Blood Kit ist in Kombination mit den Maxwell® CSC Instruments und dem Maxwell® CSC RNA Blood-Aufreinigungsverfahren als medizinisches Gerät für die In-vitro-Diagnostik (IVD) zur Durchführung automatisierter Isolierungen von RNA aus 2,5 ml in EDTA-Röhrchen entnommenem humanem Blut mit einer Anzahl an weißen Blutzellen zwischen 4×10^6 bis 10×10^6 WBC pro Milliliter bestimmt. Die aufgereinigte RNA ist für den Einsatz in auf Amplifikation basierenden In-vitro-Diagnostik-Assays geeignet.

Das Maxwell® CSC RNA Blood Kit ist für den Einsatz mit 2,5 ml humanem Vollblut bestimmt. Das Maxwell® CSC RNA Blood Kit ist für den Einsatz bei Temperaturen zwischen 15 °C und 30 °C bestimmt. Der Einsatz außerhalb dieses Temperaturbereichs kann zu suboptimalen Ergebnissen führen.

Das Maxwell® CSC RNA Blood Kit ist ausschließlich zur Verwendung durch Fachpersonal bestimmt. Diagnostische Ergebnisse, die aus RNA gewonnen werden, die mit diesem Gerät aufgereinigt wurde, müssen in Verbindung mit anderen Klinik- oder Labordaten ausgewertet werden.

4. Anwendungstechnische Grenzen des Produkts

Das Maxwell® CSC RNA Blood Kit ist ausschließlich zur Verwendung mit humanen Vollblutproben bestimmt, die in EDTA-Röhrchen entnommen wurden. Es ist nicht für den Einsatz mit anderen Proben als Vollblutproben bestimmt, wie z. B. Knochenmark- oder Buffy-Coat-Proben oder Proben, die in anderen Entnahmegefäßen gelagert wurden.

Das Maxwell® CSC RNA Blood Kit ist nicht für den Einsatz mit nicht humanen Proben einschließlich Proben aus bakteriellem und viralem Material oder zur Aufreinigung von DNA bestimmt.

Die Leistung des Maxwell® CSC RNA Blood Kit wurde im Hinblick auf die Isolierung von RNA aus 2,5 ml humanem Vollblut in EDTA-Entnahmeröhrchen bewertet.

Für die Festlegung von Leistungsmerkmalen, die für spätere Diagnostikanwendungen benötigt werden, ist der Benutzer zuständig. Jede nachfolgende Diagnostikanwendung, bei der mit dem Maxwell® CSC RNA Blood Kit aufgereinigte RNA verwendet wird, muss geeignete Kontrollen beinhalten.

5. Bevor Sie beginnen: Vorbereitung der Lösungen

1-Thioglyzerin/Lösung B

Bereiten Sie unter Verwendung eines der folgenden Verfahren ein 1-Thioglyzerin/Lösung B-Gemisch zu:

Geben Sie zu der Flasche mit Lösung B 600 µl 1-Thioglyzerin hinzu und mischen Sie alles sorgfältig. 1-Thioglyzerin ist zähflüssig, sodass im Sinne einer exakten Messung sorgfältig pipettiert werden muss. Kühlen Sie das Gemisch aus 1-Thioglyzerin/Lösung B auf Eis oder bei 2–10 °C, bevor Sie es verwenden.

Alternativ können sie auch kleinere Mengen zubereiten, indem Sie 20 µl 1-Thioglyzerin pro Milliliter Lösung B hinzugeben. Bereiten Sie pro Probe 200 µl gekühltes Gemisch aus 1-Thioglyzerin/Lösung B zu.

Hinweis: Lagern Sie das zubereitete Gemisch aus 1-Thioglyzerin/Lösung B bei einer Temperatur von 2–10 °C, bei der es bis zu 30 Tage stabil bleibt.

DNase I

Geben Sie 275 µl Nuclease-Free Water in die Phiole mit lyophilisierter DNase I. Drehen Sie die Phiole um, um die DNase I von der Unterseite des Deckels zu lösen, und schütteln Sie sie vorsichtig, um den Inhalt zu vermischen; nicht vortexen. Geben Sie 25 µl Blauen Farbstoff zu der wiederhergestellten DNase I hinzu, der Ihnen beim Pipettieren und Vorbereiten der Kartusche als Sichthilfe dienen wird. Für jeden Aufreinigungsvorgang werden 10 µl zubereitete DNase I-Lösung benötigt. Lagern Sie wiederhergestellte DNase I bei –30 °C bis –10 °C. Mehr als zehnmaliges Einfrieren und Wiederauftauen der DNase I ist nicht zulässig.



Achtung: Öffnen Sie die DNase I-Phiole vorsichtig; die Phiolenränder können scharfkantig sein.

6. Aufreinigung von RNA aus frischem Vollblut in EDTA-Entnahmeröhrchen

Halten Sie während der Verarbeitung eine RNase-freie Umgebung aufrecht. Verwenden Sie stets RNase-freie und aerosolresistente Pipettenspitzen. Wechseln Sie häufig Ihre Handschuhe, um das Risiko einer RNase-Kontamination zu verringern. Einzelheiten finden Sie in Abschnitt 12, Erstellen einer ribonukleasefreien Umgebung.

Vom Nutzer beizubringende Materialien

- Vollblut in EDTA-Entnahmeröhrchen (nicht tiefgefroren); Blut kann vor der Aufreinigung bei 2–10 °C bis zu 3 Tage lang gelagert werden
- Mikrozentrifuge
- Serologische 10-ml-Pipetten (steril)
- Pipettierer und RNase-freie, sterile, aerosolresistente Pipettenspitzen
- 15-ml-Röhrchen (steril)
- Zentrifuge mit Ausschwingrotor

6.A. Vorbereitung der Vollblutproben

1. Übertragen Sie 2,5 ml gut durchmisches Vollblut (nicht tiefgefroren) aus dem EDTA-Entnahmeröhrchen in ein steriles 15-ml-Röhrchen.
2. Geben Sie 7,5 ml Lösung A hinzu und drehen Sie das Röhrchen 5–10-mal um, um den Inhalt zu vermischen. Hierbei handelt es sich um einen anderen Lyseschritt; die roten Blutzellen werden lysiert, während die weißen Blutzellen intakt bleiben.
3. Inkubieren Sie die Lysate 10 Minuten lang bei Raumtemperatur. Drehen Sie die Proben während der Inkubation wie in Schritt 2 erläutert zweimal um, um sie zu vermischen.
4. Zentrifugieren Sie das/die Röhrchen 10 Minuten lang bei $3.000 \times g$ in einer Zentrifuge mit Ausschwingrotor.
5. Entfernen Sie den Überstand durch Dekantieren oder Pipettieren. Schleudern Sie das Röhrchen kurz, um die restliche Flüssigkeit am Boden des Röhrchens zu erfassen. Entfernen Sie mit einer Pipette so viel wie möglich von dem Überstand, ohne den sichtbaren WBC-Rückstand anzugreifen.
6. Geben Sie 200 µl gekühlte(s) 1-Thioglyzerin/Lösung B zu dem Pellet hinzu und vortexen Sie das Gemisch, um das Pellet wieder zu suspendieren.
7. Geben Sie 200 µl Lyse-Pufferlösung und 25 µl Proteinase K zu dem wieder suspendierten Pellet hinzu. Durch Vortexen 15–20 Sekunden lang vermischen.

Hinweis: Wenn Sie den Vorgang während der Vorbereitung unterbrechen müssen, können Sie die Proben nach Schritt 7 bei -30 °C bis -10 °C bis zu 5 Tage lagern. Bei diesen Lagertemperaturen können die Proben ganz oder teilweise einfrieren. Wenn Sie bereit sind, die Probenaufreinigung fortzusetzen, tauen Sie die Röhrchen 10 Minuten lang bei Raumtemperatur auf, bevor Sie mit dem nächsten Schritt fortfahren.

8. Inkubieren Sie die Proben für 10 Minuten bei Raumtemperatur. Bereiten Sie während dieser Zeit, wie in Abschnitt 6.B beschrieben, die Kartuschen vor.
9. Geben Sie zu Kammer 1 der Maxwell® CSC RNA Blood Cartridge (der größten Kammer in der Kartusche) Lysat hinzu.

6.B. Vorbereitung der Maxwell® CSC RNA Blood Cartridges

1. Wechseln Sie die Handschuhe, bevor Sie Maxwell® CSC RNA Blood Cartridges, CSC/RSC-Stößel und Elutions-Gefäße handhaben. Die Kartuschen werden in der oder den Kartuschenhalterung(en) außerhalb des Geräts vorbereitet; anschließend wird bzw. werden die Kartuschenhalterung(en) mit den Kartuschen und Proben zur Aufreinigung in das Gerät gestellt. Platzieren Sie jede Kartusche in der Kartuschenhalterung so, dass Kammer 1 (die größte Kammer in der Kartusche) am weitesten von den Elutions-Gefäßen entfernt ist (Abbildung 2). Drücken Sie die Kartusche nach unten, bis sie an Ort und Stelle einrastet. Vergewissern Sie sich, dass beide Enden der Kartusche vollständig in der Kartuschenhalterung sitzen. Ziehen Sie die Folienversiegelung vorsichtig ab, sodass die gesamte Folie von der Kartusche entfernt wird. Vergewissern Sie sich, dass sämtliches Versiegelungs-Tape und etwaige Kleberückstände von der Kartusche entfernt worden sind.



Achtung: Kartuschen vorsichtig handhaben. Folienversiegelungen können scharfkantig sein.

2. Platzieren Sie einen CSC/RSC-Stößel in Kammer 8 jeder Kartusche.
3. Platzieren Sie ein leeres Elutions-Gefäß an die hierfür vorgesehene Position jeder Kartusche in der oder den Kartuschenhalterung(en).

Hinweis: Verwenden Sie nur die Elutions-Gefäße, die im Lieferumfang des Maxwell® CSC RNA Blood Kit enthalten sind. Andere Elutions-Gefäße sind u. U. nicht mit den Maxwell® CSC Instruments kompatibel und können die RNA-Aufreinigungsleistung beeinträchtigen.

4. Geben Sie unten in jedes Elutions-Gefäß 50 µl Nuclease-Free Water. Die Elutions-Gefäße müssen während der RNA-Aufreinigung offen bleiben.

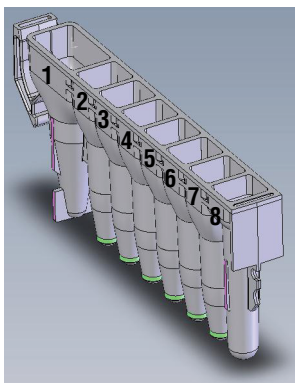
Hinweis: Verwenden Sie nur das im Lieferumfang des Maxwell® CSC RNA Blood Kit enthaltene Nuclease-Free Water. Die Verwendung anderer Elutions-Pufferlösungen kann die RNA-Aufreinigungsleistung oder die nachfolgende Verwendung beeinträchtigen.

5. Geben Sie 10 µl wiederhergestellte DNase I (blau) in Kammer 4 (gelb) jeder Kartusche. Die resultierende grüne Farbe ist ein Sichtindikator dafür, dass die DNase I-Lösung zu Kammer 4 hinzugegeben wurde.

Hinweise zur Vorbereitung der Maxwell® CSC RNA Blood Cartridges



Proben- oder Reagenzienspritzer von der gesamten Kartuschenhalterung sind mit einer Lösung aus Wasser und Reinigungsmittel zu reinigen und anschließend mit einem antibakteriellen Spray einzusprühen bzw. abzuwischen und dann mit Wasser abzuwaschen. Verwenden Sie an keinem Teil des Geräts Bleiche.



Vom Benutzer hinzuzugebender Kammerinhalt:

1. Vorbereitetes Probenlysat
4. 10 µl vorbereitete DNase I
8. CSC/RSC-Stößel

Abbildung 1. Maxwell® CSC Cartridge. Das vorbereitete Blutprobenlysat wird zu Kammer 1 hinzugegeben, 10 µl DNase I wird zu Kammer 4 hinzugegeben und in Kammer 8 wird ein CSC/RSC-Stößel gesetzt.



Abbildung 2. Einrichtung und Konfiguration der Kartuschenhalterung. In die Elutions-Gefäße wird, wie gezeigt, Nuclease-Free Water (50 µl) gegeben.

7. Gerätelauf

Das Maxwell® CSC RNA Blood-Verfahren für das Maxwell® CSC Instrument kann unter folgender Adresse von der Promega-Website heruntergeladen werden: **www.promega.com/resources/tools/maxwellcscmethod**.

Das Maxwell® CSC RNA Blood-Verfahren für das Maxwell® CSC 48 Instrument kann unter folgender Adresse von der Promega-Website heruntergeladen werden:

www.promega.com/resources/software-firmware/maxwell-maxprep/maxwell-csc-48-methods/

Wenn Sie fürchten, dass Ihr Gerät mit RNase verunreinigt wurde, reinigen Sie das Gerät mit einer Reinigungslösung wie z. B. Steris LpH®, bevor Sie einen Lauf durchführen. Befolgen Sie die Anweisungen im Abschnitt „Reinigung und Wartung“ der Betriebsanleitung zum entsprechenden Maxwell® CSC Instrument.

1. Schalten Sie das Maxwell® Instrument und den Tablet-PC ein. Melden Sie sich bei Ihrem Tablet-PC an und starten Sie die Maxwell® Software im IVD-Modus durch zweimaliges Antippen des Symbols auf dem Desktop. Das Gerät führt einen Selbsttest durch und setzt alle beweglichen Teile zurück.
2. Tippen Sie im Startbildschirm auf **Start**.
3. Scannen Sie den Barcode auf dem Etikett des Maxwell® CSC RNA Blood Kit oder geben Sie ihn ein und tippen Sie dann auf **OK**, um das auszuführende Verfahren automatisch auszuwählen (Abbildung 3).

Hinweis: Der Verfahrens-Barcode des Maxwell® CSC RNA Blood Kit wird für die RNA-Aufreinigung im Maxwell® CSC Instrument benötigt. Das Etikett des Kits enthält zwei Barcodes. Der Verfahrens-Barcode ist in Abbildung 3 zu sehen. Wenn der Barcode nicht gescannt werden kann, wenden Sie sich bitte an Promega Technical Services.

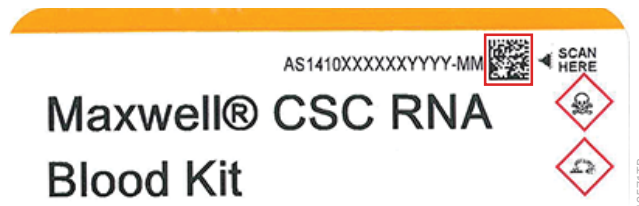


Abbildung 3. Kit-Etikett mit dem zu scannenden Barcode. Um einen Aufreinigungslauf zu starten, scannen Sie den Barcode, der durch die rote Umrandung, oben rechts auf dem Kit-Etikett, gekennzeichnet ist.

4. Tippen Sie auf dem Bildschirm „Kartuschen-Einrichtung“ auf die Kartuschenpositionen, um für diesen Extraktionslauf Positionen auszuwählen oder die Auswahl aufzuheben. Geben Sie ggf. erforderliche Probenverfolgungsinformationen ein und tippen Sie auf die Schaltfläche **Fortsetzen**, um fortzufahren.

Hinweis: Bei Verwendung des Maxwell® CSC 48 Instrument müssen Sie die Schaltfläche **Vorderseite** oder **Rückseite** drücken, um die Kartuschenpositionen an jeder Kartuschenhalterung festzulegen oder aufzuheben.

5. Überprüfen Sie, ob nach Öffnen der Tür alle Elemente der Extraktions-Checkliste durchgeführt wurden. Überprüfen Sie, ob die Proben zur Kammer 1 der Kartuschen hinzugegeben wurden, ob die Kartuschen in das Gerät geladen wurden, ob offene Elutions-Gefäße mit Elutions-Pufferlösung vorhanden sind und ob die Stößel in Kammer 8 gesetzt wurden. Setzen Sie die Kartuschenhalterung(en) mit den vorbereiteten Kartuschen in die Maxwell® Instrument- Plattform ein.

Einsetzen der Maxwell® Deck Tray: Halten Sie die Kartuschenhalterung an den Seiten fest, damit keine Kartuschen herausfallen. Vergewissern Sie sich, dass die Kartuschenhalterung so in das Maxwell® Instrument eingesetzt wurde, dass die Elutions-Gefäße in nächster Nähe zur Tür stehen. Winkeln Sie die Rückseite der Kartuschenhalterung nach unten ab und setzen Sie sie so in das Gerät, dass die Rückseite der Kartuschenhalterung an der Rückseite der Geräteplattform anliegt. Drücken Sie auf die Vorderseite der Kartuschenhalterung, um sie fest in die Geräteplattform einzusetzen. Falls Sie Schwierigkeiten haben, die Kartuschenhalterung in die Plattform zu setzen, überprüfen Sie, ob sie richtig ausgerichtet ist. Stellen Sie sicher, dass die Kartuschenhalterung sich auf der Geräteplattform befindet und vollständig eingesetzt ist.

Hinweis: An Maxwell® Deck Trays mit 24 Positionen müssen Sie die Bezeichnung überprüfen, um festzustellen, ob diese an der Vorder- oder Rückseite des Geräts platziert werden müssen.

6. Überprüfen Sie, ob alle angegebenen Vorbereitungsschritte ausgeführt wurden, und tippen Sie auf **Start**, um die Gerätetür zu schließen und die Verarbeitung zu beginnen.

Hinweis: Bei Verwendung eines Maxwell® Instrument mit 48 Positionen werden die Kartuschenhalterungen gescannt, sobald die Tür sich schließt, falls das Vision System aktiviert wurde. Jegliche Fehler beim Einrichten der Kartuschenhalterung (z. B. Stößel nicht in Kammer 8, Elutions-Gefäße nicht vorhanden und offen) führen dazu, dass die Software zum Bildschirm „Kartuschen-Einrichtung“ zurückkehrt und die problematischen Positionen mit einem Ausrufezeichen in einem roten Kreis gekennzeichnet werden. Sie können durch Berühren des Ausrufezeichens eine Beschreibung des Fehlers aufrufen und alle Fehlerzustände später beheben. Berühren Sie erneut die Schaltfläche **Start**, um den Scan der Kartuschenhalterung zu wiederholen und mit dem Extraktionslauf zu beginnen.



Warnung: Quetschgefahr.

7. Das Maxwell® Instrument beginnt sofort mit dem Aufreinigungslauf. Auf dem Bildschirm werden die Schritte angezeigt, die durchgeführt werden, sowie die ungefähre Restlaufzeit.

Hinweise:

1. Wenn Sie die Schaltfläche **Abbruch** berühren, wird der aktuelle Lauf abgebrochen. Alle Proben aus einem abgebrochenen Lauf gehen verloren.
2. Wird der Lauf vor Beendigung abgebrochen, kann die Aufforderung angezeigt werden, zu prüfen, ob noch Stößel auf der Stößelhalterung geladen sind. Wenn Stößel auf der Stößelhalterung vorhanden sind, müssen Sie auf Anforderung den Schritt **Reinigung** durchführen. Wenn sich keine Stößel auf der Stößelhalterung befinden, können Sie auf Anforderung den Schritt **Reinigung** überspringen. Die Proben sind dann nicht mehr zu verwenden.
8. Nach Abschluss des Laufs wird auf dem Bildschirm die Meldung angezeigt, dass das Verfahren abgeschlossen ist.

7. Gerätelauf (Fortsetzung)

Ende des Laufs

9. Befolgen Sie am Ende des Verfahrens die Anweisungen auf dem Bildschirm, um die Tür zu öffnen. Vergewissern Sie sich, dass sich die Stößel am Ende des Laufs in Kammer 8 der Kartusche befinden. Sind noch Stößel an der Stößelhalterung geladen, befolgen Sie die Anweisungen in der entsprechenden Betriebsanleitung zu Ihrem Maxwell® Instrument (siehe Tabelle 1), und führen Sie das Verfahren **Reinigung** durch, um die Stößel, sofern möglich, zu entladen.
10. Setzen Sie die Deckel auf die Elutions-Gefäße mit der RNA und entnehmen Sie die Gefäße sofort, um zu verhindern, dass die Eluate verdunsten. Nehmen Sie die Maxwell® Deck Tray(s) aus dem Gerät.

Hinweis: Halten Sie die Kartuschenhalterung an den Seiten, um sie aus der Geräteplattform zu entnehmen. RNA-Proben können über Nacht bei $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ oder über einen längeren Zeitraum bei unter $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert werden.

Entnehmen Sie unbedingt die Proben aus dem Instrument, bevor das UV-Reinigungsprotokoll des Instruments durchgeführt wird, um zu verhindern, dass die aufgereinigte Nukleinsäure Schaden nimmt.



11. Nehmen Sie die Kartuschen und Stößel aus der/den Maxwell® Deck Tray(s) und entsorgen Sie sie gemäß den Richtlinien Ihres Instituts für gefährliche Materialien. Kartuschen, Stößel und Elutions-Gefäße sind für den einmaligen Gebrauch bestimmt. Maxwell® CSC Cartridges, CSC/RSC-Stößel und Elutions-Gefäße dürfen nicht wiederverwendet werden.

8. Nach der Aufreinigung

Stellen Sie fest, ob der Ertrag der aufgereinigten RNA-Probe und die Reinheit die eingegebenen Anforderungen für das entsprechende nachfolgende Diagnostik-Assay erfüllen, bevor Sie sie in diesem Assay verwenden.

9. Evaluierung der analytischen Leistung

Die analytische Leistung des Maxwell® CSC RNA Blood Kit wurde unter Verwendung von humanen Vollblutproben im Maxwell® CSC Instrument bewertet. Im Rahmen der Entwicklung des Instruments wurde eine entsprechende Leistung des Maxwell® CSC RNA Blood Kit mit dem Maxwell® CSC 48 Instrument nachgewiesen.

9.A. RNA-Quantität- und -Qualität

Tabelle 2. Aus replizierten Proben versendeten Vollbluts extrahierte RNA. Aus acht replizierten 2,5-ml-Proben versendeten Vollbluts wurde RNA extrahiert und in 50 µl eluiert. Die Absorbanz der aufgereinigten RNA wurde bei 230 nm, 260 nm, 280 nm und 340 nm gemessen. Die RNA-Konzentration wurde nach Subtraktion der Absorbanz der Leerwertbestimmung und der Korrektur des Geräterauschens (Absorbanz bei 340 nm) mithilfe einer Absorbanz bei 260 nm ermittelt, und zur Beurteilung der RNA-Qualität wurden die A_{260}/A_{280} und A_{260}/A_{230} -Verhältniswerte berechnet. Das Maxwell® CSC RNA Blood Kit erzielte RNA-Konzentrationen von durchschnittlich 127,54 ng/µl mit einem durchschnittlichen A_{260}/A_{280} -Verhältniswert von 2,12 und einem durchschnittlichen A_{260}/A_{230} -Verhältniswert von 2,10.

Replikant	RNA-Konzentration (ng/µl)	A_{260}/A_{280} -Verhältnis	A_{260}/A_{230} -Verhältnis
1	118,22	2,11	2,01*
2	137,85	2,12	2,08
3	107,23	2,12	2,09
4	133,07	2,12	2,09
5	137,18	2,12	2,11
6	93,90	2,12	2,09
7	145,42	2,13	2,12
8	147,45	2,13	2,12
Durchschnitt	127,54	2,12	2,10

*Der Dixon-Ausreißertest ließ den Ausschluss eines Replikats in diesem Set als Ausreißer an der 95%-Konfidenzschwelle zu. Dieses Replikant wurde aus der Analyse ausgeschlossen.

9.B. RNA-Amplifizierbarkeit

Tabelle 3. Bewertung der Amplifizierbarkeit von RNA aus Vollblut. Zur Bewertung der Amplifizierbarkeit von RNA, die unter Verwendung des Maxwell® CSC RNA Blood Kit und des Maxwell® CSC Instrument aus Vollblut extrahiert wurde, wurde jede extrahierte RNA-Probe doppelt durch RT-qPCR-Assay-Targeting eines Haushaltsgens, HPRT1 (Hypoxanthinphosphoribosyltransferase 1) amplifiziert. Alle RNA-Proben wurden innerhalb des linearen Bereichs des Assays mit Erträgen von 117,84–182,79 ng/μl und einem durchschnittlichen Ertrag aller Proben von 151,58 ng/μl amplifiziert.

RNA-Probe	RNA-Konzentration (ng/μl) Ermittelt durch RT-qPCR
1	144,70
2	136,90
3	117,84
4	151,06
5	173,55
6	124,25
7	182,79
8	181,55
Durchschnitt	151,58

9.C. Reproduzierbarkeit

Tabelle 4. Variabilität von Benutzer zu Benutzer bei der RNA-Extraktion aus Vollblut. Um die Variabilität von Benutzer zu Benutzer zu bewerten, wurde RNA aus Vollblutproben dreier unterschiedlicher Benutzer unter Verwendung des Maxwell® CSC RNA Blood Kit und des Maxwell® CSC Instrument extrahiert. Die extrahierte RNA wurde im RT-qPCR Assay unter Targeting des HPRT1-Gens amplifiziert, und es wurden die RNA-Konzentrationen aus den C_q Wert berechnet. Jedes Probenet enthält 8 Replikate. Der prozentuale Abweichungskoeffizient (% CV) der Probenets aller drei Benutzer lag bei 9,83.

Benutzer	Durchschnittlicher Ertrag (ng/μl)	% CV
1 (n = 7)*	134,44	3,24
2 (n = 7)*	134,42	4,64
3 (n = 8)	122,95	15,13
% CV, Benutzer 1, 2, 3		9,83

*Der Dixon-Ausreißertest ließ den Ausschluss eines Replikats in diesem Set als Ausreißer an der 95-%-Konfidenzschwelle zu. Dieses Replikat wurde aus der Analyse ausgeschlossen.

9.D. Inhibition (Interferierende Stoffe)

Tabelle 5. Test auf RNase-Kontamination und Inhibition der RNA-Amplifikation aufgrund von Störsubstanzen. Unter Verwendung des Maxwell® CSC RNA Blood Kit und des Maxwell® CSC Instrument wurde RNA aus acht replizierten Proben derselben Vollblutproben extrahiert. Um zu ermitteln, ob in den Eluaten aktive RNase vorlag, wurde ein im Handel erhältlicher RNase-Nachweis-Assay verwendet. Es wurde keine nachweisbare RNase-Aktivität beobachtet. Außerdem wurde die Auswirkung von Störsubstanzen bewertet, die gleichzeitig mit RNA aus Vollblut aufgereinigt werden. Für jedes RNA-Eluat wurden zwei Amplifikationssets zusammengestellt – eines unter Verwendung von 2 µl unverdünnter RNA pro RT-qPCR für das HPRT1-Target und ein zweites Set unter Verwendung von 2 µl einer achtfachen Verdünnung – und es wurden die ΔC_q -Werte berechnet. Die ΔC_q -Werte reichten von 2,256 Zyklen bis 3,116 Zyklen. Alle ΔC_q -Werte lagen im Bereich von 3 ± 1 Zyklen, was bei einer achtfachen Verdünnung zu erwarten war, sodass nachgewiesen werden konnte, dass alle Substanzen, die gleichzeitig mit der RNA aus Vollblut aufgereinigt wurden, nur minimale Auswirkung auf die Amplifikation hatten.

Probennummer	C_q bei unverdünnter RNA (Zyklen)	C_q bei achtfacher Verdünnung der RNA (Zyklen)	ΔC_q (Zyklen)
1	25,528	27,881	2,353
2	23,530	26,647	3,116
3	23,836	26,888	3,052
4	23,602	26,618	3,016
5	24,139	26,407	2,268
6	23,567	25,824	2,256
7	23,694	26,469	2,774
8	24,298	27,189	2,891

9.E. Kreuzkontamination

Unter Verwendung des Maxwell® CSC RNA Blood Kit und des Maxwell® CSC Instrument wurde aus 8 Replikaten einer einzigen Vollblutprobe und 8 Negativkontrollen RNA extrahiert. Maxwell® CSC Cartridges mit Vollblutproben oder Negativkontrolle (Wasser) wurden in wechselnden Kartuschenpositionen im Maxwell® CSC Instrument verarbeitet. Die daraus resultierenden RNA-Eluate wurden doppelt durch RT-qPCR-Targeting des HPRT1-Gens getestet, um eine etwaige RNA-Kontamination in den Negativkontrollen aus benachbarten Vollblutproben nachzuweisen. In den Negativkontrollen wurde keine kontaminierte RNA nachgewiesen.

10. Evaluierung der klinischen Leistung

Die klinische Leistung des Maxwell® CSC RNA Blood Kit wurde durch ein externes klinisches Labor unter Verwendung von humanen Vollblutproben und des Maxwell® CSC Instrument bewertet.

10.A.RNA-Quantität, -Qualität und -Amplifizierbarkeit

Tabelle 6. Methodenvergleich. Unter Verwendung des Maxwell® CSC RNA Blood Kit und des Maxwell® CSC Instrument wurde RNA aus 2,5-ml-Proben aus insgesamt 24 unterschiedlichen Vollblutproben extrahiert. Zu Vergleichszwecken wurde unter Anwendung der Standard-Nukleinsäure-Aufreinigungsmethode des Labors (Labor-Referenzmethode) aus denselben Proben RNA extrahiert. Die extrahierte RNA wurde im RT-qPCR-Assay zum BCR-ABL1-Targeting des Wildtyp-ABL1-(ABL Proto-Onkogen 1-)Transkripts gemäß den Standardverfahren des klinischen Labors getestet, und der Ertrag wurde als Anzahl der nachgewiesenen ABL1-Kopien ermittelt. RNA-Eluate derselben Vollblutprobe wurden im selben RT-qPCR-Assay getestet, um die Auswirkungen der Assay-Variabilität auf die Ergebnisse zu minimieren. Der Ertrag der unter Verwendung des Maxwell® CSC RNA Blood Kit extrahierten RNA lag bei ≥ 10.000 ABL1-Kopien im RT-qPCR-Assay. Die unter Verwendung der aus denselben Blutproben extrahierten RNA erzielten Erträge stimmten mit denen der unter Verwendung des Maxwell® CSC RNA Blood Kit und der Labor-Referenzmethode extrahierten RNA überein.

Blutprobe	RNA-Ertrag (ABL1-Kopien)		Mittlerer C_q		ΔC_q (Maxwell® CSC – Labor-Referenzmethode)
	Maxwell® CSC System	Labor-Referenzmethode	Maxwell® CSC System	Labor-Referenzmethode	
1	69.083,3	40.833,2	22,06	22,86	-0,80
2	223.597,5	80.162,6	20,29	21,84	-1,55
3	124.624,0	45.716,7	21,17	22,69	-1,52
4	108.277,1	46.241,3	21,39	22,71	-1,32
5	121.341,0	64.340,2	21,21	22,17	-0,96
6	83.351,0	52.905,5	21,78	22,46	-0,68
7	143.918,0	61.427,5	20,95	22,24	-1,29
8	118.185,0	50.284,7	21,25	22,54	-1,29
9	58.022,8	40.434,3	22,76	23,30	-0,54
10	101.240,1	45.860,7	21,94	23,11	-1,17
11	59.266,0	44.276,5	22,74	23,16	-0,42
12	71.620,9	50.254,9	22,45	22,98	-0,53
13	92.923,4	60.768,8	22,07	22,69	-0,62
14	62.285,3	47.983,2	22,66	23,04	-0,38
15	81.094,3	50.554,7	22,27	22,97	-0,70
16	88.203,5	56.790,2	22,14	22,79	-0,65
17	35.307,2	29.342,7	22,85	23,11	-0,26
18	30.544,4	30.890,3	23,08	23,04	0,04
19	35.016,3	37.702,2	22,86	22,74	0,12
20	26.850,8	29.618,1	23,25	23,10	0,16
21	26.792,4	34.277,7	23,25	22,88	0,37
22	35.179,1	30.662,9	22,84	23,05	-0,20
23	47.123,3	40.675,5	22,41	22,63	-0,22
24	50.146,0	30.248,6	22,31	23,07	-0,75

10.B.Reproduzierbarkeit

Tabelle 7. Reproduzierbarkeit der RNA-Extraktion durch unterschiedliche Tester. Um die Konsistenz von Ergebnissen zwischen Benutzern in der typischen Benutzerumgebung zu bestätigen, wurde mithilfe des Maxwell® CSC RNA Blood Kit und des Maxwell® CSC Instrument aus acht verschiedenen Vollblutproben von zwei verschiedenen Testern RNA extrahiert. Die gewonnenen RNA-Eluat wurden unter BCR-ABL1-Targeting des Wildtyps-ABL1-Transkripts per RT-qPCR-Assay amplifiziert, und die durch jede einzelne Probe erzielten Ergebnisse der beiden Tester wurden verglichen. Die von beiden Testern aus allen Proben extrahierte RNA wurde amplifiziert, und der Ertrag lag bei ≥ 10.000 ABL1-Kopien mit einer durchschnittlichen C_q -Differenz (ΔC_q) zwischen den Testern von weniger als 1 Zyklus. Die ΔC_q lag zwischen 0,03 und 1,25.

Blutprobe	RNA-Ertrag (ABL1-Kopien)		Mittlerer C_q		ΔC_q zwischen Testern
	Tester 1	Tester 2	Tester 1	Tester 2	
1	69.083,3	68.042,8	22,06	22,09	0,03
2	223.597,5	102.244,2	20,29	21,47	1,18
3	124.624,0	68.351,6	21,17	22,08	0,91
4	108.277,1	48.271,9	21,39	22,60	1,21
5	121.341,0	133.669,5	21,21	21,53	0,32
6	83.351,0	64.549,4	21,78	22,60	0,82
7	143.918,0	84.824,5	20,95	22,20	1,25
8	118.185,0	83.599,3	21,25	22,22	0,97

10.C.Kreuzkontamination

Es wurde die während der RNA-Extraktion unter Verwendung des Maxwell® CSC RNA Blood Kit in der typischen Benutzerumgebung zwischen den Proben aufgetretene Kreuzkontamination bewertet. Die RNA-Extraktion unter Verwendung des Maxwell® CSC RNA Blood Kit wurde anhand von acht verschiedenen Vollblutproben und acht Negativkontrollen (Wasser) im selben Gerätelauf durchgeführt. Maxwell® CSC Cartridges mit Vollblutproben oder Negativkontrollen (Wasser) wurden in wechselnden nebeneinanderliegenden Kartuschenpositionen im Maxwell® CSC Instrument verarbeitet. Die daraus resultierenden Eluate wurden doppelt per RT-qPCR-Assay unter Targeting des Wildtyp-ABL1-Gens getestet, um zu ermitteln, ob die Negativkontrollproben kontaminierte RNA aus den Blutproben enthielt. In den Negativkontrollen wurde keine kontaminierte RNA nachgewiesen, wodurch bestätigt wurde, dass es während der RNA-Extraktion mit dem Maxwell® CSC System zu keiner nachweisbaren Kreuzkontamination gekommen war.

11. Fehlerbehebung

Bei Fragen, die hier nicht angesprochen werden, wenden Sie sich bitte an Ihre Promega-Niederlassung oder Ihren Vertriebspartner vor Ort. Die Kontaktdaten finden Sie unter: **www.promega.com**.

E-Mail: **techserv@promega.com**

Symptome

Die RNA-Konzentration im Eluat ist geringer als erwartet
(Eine typische Probe sollte >50 ng/μl aufgereinigte RNA ergeben.)

Mögliche Ursachen und Anmerkungen

Die WBC-Anzahl in der Blutprobe lag unter oder über dem für die Nutzung des Produkts genannten Bereich von 4×10^6 bis 10×10^6 WBC/ml. Das Kit ist für die Aufreinigung von RNA aus Blutproben mit einer WBC-Anzahl von 4×10^6 bis 10×10^6 WBC/ml optimiert.

Es wurde eine falsche Menge Vollblut verwendet. Wenn mehr oder weniger als 2,5 ml Vollblut hinzugegeben werden, kann dies zu einem geringeren Ertrag führen.

Die Blutprobe war zu alt. Die besten Ergebnisse werden mit frischen Blutproben erzielt. Proben, die über mehr als 3 Tage bei 2–10 °C gelagert wurden, können zu schlechteren Erträgen führen.

Die Probe wurde vor der Aufreinigung bei unter 2 °C oder über 10 °C gelagert. Fehlerhafte Lagertemperaturen können die Lyse der weißen Blutzellen oder eine Degradierung der RNA verursachen.

Möglicherweise wurden während der Probenverarbeitung oder -quantifizierung RNasen eingebracht. Informationen zum Erstellen einer ribonukleasefreien Umgebung finden Sie in Abschnitt 12.

Nicht angemessene Überstands Entfernung nach der differentiellen Lyse. Vergewissern Sie sich, dass der Überstand so vollständig wie möglich entfernt wird.

Das WBC-Pellet wurde während der Entfernung des Überstands disloziert. Vermeiden Sie es, das WBC-Pellet zu berühren, wenn Sie den Überstand entfernen.

Fehlerhafter Probenotyp. Das Kit ist zur Verwendung mit humanem Vollblut vorgesehen. Andere Probenotypen (z. B. Knochenmark, Plasma, Buffy-Coat usw.) wurden nicht mit diesem Kit getestet.

Fehlerhafter Röhrchentyp für die Blutentnahme. Das Kit ist zur Verwendung mit humanem Vollblut in EDTA-Entnahmeröhrchen vorgesehen. Andere Röhrchentypen wurden nicht mit diesem Kit getestet und sind u. U. nicht mit den Aufreinigungsmikalien kompatibel.

Symptome

Geringe RNA-Qualität
(Eluate sollten ein A_{260}/A_{280} -Verhältnis über 1,8 und ein A_{260}/A_{230} -Verhältnis zwischen 1,8 und 2,4 haben.)

Mögliche Ursachen und Anmerkungen

Die WBC-Anzahl in der Blutprobe lag über dem für die Nutzung des Produkts genannten Bereich von 4×10^6 bis 10×10^6 WBC/ml. Das Kit ist für die Aufreinigung von RNA aus Blutproben mit einer WBC-Anzahl von 4×10^6 bis 10×10^6 WBC/ml optimiert.

Es wurde eine falsche Menge Vollblut verwendet. Wenn mehr oder weniger als 2,5 ml Vollblut hinzugegeben werden, kann dies zu einer verringerten Eluatreinheit führen.

Die Blutprobe war zu alt. Die besten Ergebnisse werden mit frischen Blutproben erzielt. Proben, die über mehr als 3 Tage bei 2–10 °C gelagert wurden, können zu einer schlechteren RNA-Qualität führen.

Die Probe wurde vor der Aufreinigung bei unter 2 °C oder über 10 °C gelagert. Fehlerhafte Lagertemperaturen können die Lyse der weißen Blutzellen oder eine Degradierung der RNA verursachen.

Nicht angemessene Überstands Entfernung nach der differentiellen Lyse. Vergewissern Sie sich, dass der Überstand so vollständig wie möglich entfernt wird.

Fehlerhafter Probentyp. Das Produkt ist zur Verwendung mit humanem Vollblut vorgesehen. Andere Probentypen (z. B. Knochenmark, Plasma, Buffy-Coat usw.) wurden nicht mit diesem Produkt getestet.

In den Eluaten liegt ein hoher DNA-Gehalt vor.
(Die Eluate sind mit DNA kontaminiert, was nachfolgende Assays beeinträchtigen kann.)

Die WBC-Anzahl in der Blutprobe liegt über dem für die Nutzung des Produkts genannten Bereich von 4×10^6 bis 10×10^6 WBC/ml.

Es wurde eine falsche Menge Vollblut verwendet. Werden mehr als 2,5 ml Vollblut hinzugegeben, kann dies zu einer DNA-Kontamination in den Eluaten führen.

Es wurde keine DNase I zu der Kartusche gegeben. Wenn möglich, untersuchen Sie Kammer 4 in den verbrauchten Kartuschen. Kammer 4 sollte grün (nicht gelb) sein, wenn den Kartuschen in Abschnitt 6.B, Schritt 5 DNase I hinzugegeben wurde.

Das vorbereitete Lysat ist zu zähflüssig, um pipettiert zu werden.

Die WBC-Anzahl in der Blutprobe lag über dem für die Nutzung des Produkts genannten Bereich von 4×10^6 bis 10×10^6 WBC/ml.

Es wurde eine falsche Menge Vollblut verwendet. Werden mehr als 2,5 ml Vollblut hinzugegeben, kann dies zu Lysaten führen, die zähflüssig und schwer zu pipettieren sind.

Jeder schwerwiegende Vorfall in Zusammenhang mit dem Produkt, der zum Tod oder zu schweren Verletzungen eines Benutzers oder Patienten geführt hat oder führen könnte, ist dem Hersteller unverzüglich zu melden. Benutzer mit Sitz in der Europäischen Union sollten alle schwerwiegenden Vorfälle zudem der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaats, in dem der Benutzer und/oder der Patient niedergelassen ist, melden.

12. Erstellen einer ribonukleasefreien Umgebung

Ribonukleasen sind extrem schwer zu inaktivieren. Achten Sie darauf, dass während und nach der Isolation keine RNase-Aktivität in Ihre RNA-Proben gelangt. Dies ist besonders wichtig, wenn es schwierig war, an das Ausgangsmaterial zu gelangen oder wenn das Ausgangsmaterial unersetzlich ist. Die folgenden Hinweise sollen Ihnen dabei helfen zu verhindern, dass Ihre Proben versehentlich mit RNase kontaminiert werden.

1. Zwei der häufigsten Ursachen für eine RNase-Kontaminierung sind die Hände des Benutzers sowie Bakterien oder Schimmel, die in durch die Luft übertragenen Staubpartikeln vorkommen. Um zu verhindern, dass es aufgrund dieser Ursachen zu Kontaminierungen kommt, wenden Sie bei der Handhabung der im Lieferumfang dieses Systems enthaltenen Reagenzien sterile Verfahren an. Tragen Sie immer Handschuhe. Wechseln Sie die Handschuhe, sobald Sie in Kontakt mit Ribonukleasen gekommen sind.
2. Sofern möglich, sollten für die Handhabung von RNA sterile Einweg-Kunststoffprodukte verwendet werden. Diese Materialien sind in der Regel RNase-frei und müssen nicht vorbehandelt werden, um die RNase zu inaktivieren.
3. Behandeln Sie unsterile Glas- und Kunststoffprodukte und Elektrophoresekammern, bevor Sie sie verwenden, um sicherzustellen, dass sie RNase-frei sind. Stellen Sie Glasprodukte über Nacht bei 200 °C in den Ofen und spülen Sie Kunststoffprodukte sorgfältig mit 0,1 N NaOH, 1 mM EDTA und anschließend mit RNase-freiem Wasser ab. Sie können auch im Handel erhältliche Produkte zur Entfernung der RNase verwenden, wenn Sie dabei die Herstelleranweisungen beachten.

Hinweis: Elektrophoresekammern können von der Analyse von DNA-Proben mit Ribonukleasen, insbesondere mit RNase A, kontaminiert sein. Sofern möglich, verwenden Sie für RNA-Analysen ausschließlich neue oder dekontaminierte Apparate.

4. Behandeln Sie Lösungen, die nicht im Lieferumfang des Systems enthalten sind, indem Sie 0,1 % v/v Diethylpyrocarbonat (DEPC) in einem Abzug hinzugeben. Über Nacht inkubieren und dabei bei Raumtemperatur in dem Abzug umrühren. 30 Minuten autoklavieren, um etwaige DEPC-Rückstände zu entfernen.



Achtung: DEPC ist ein mutmaßliches Karzinogen und sollte daher nur in einem Laborabzug verwendet werden. DEPC reagiert schnell mit Aminen und kann nicht für die Tris-Puffer-Behandlung eingesetzt werden.

Hinweis: Bei allen nachfolgenden Anwendungen ist es unerlässlich, dass Sie Ihre RNA-Proben weiterhin vor RNasen schützen. Tragen Sie saubere Handschuhe und verwenden Sie RNase-freie Lösungen und Zentrifugengefäße.

13. Literaturhinweise

1. Clinical Laboratory Standards Institute (2007) Handling, transport, and storage of specimens for molecular methods. Online einsehbar unter: **www.clsi.org**
2. Murray, P.R. *et al.* (2007) *Manual of Clinical Microbiology*, 9th Edition, ASM Press.

14. Verwandte Produkte

Geräte und Zubehör

Produkt	Größe	Cat.#
Maxwell® CSC Instrument*	jeweils 1	AS6000
Maxwell® RSC/CSC Deck Tray	jeweils 1	SP6019
Maxwell® CSC 48 Instrument*	jeweils 1	AS8000
Maxwell® RSC/CSC 48 Front Deck Tray	jeweils 1	AS8401
Maxwell® RSC/CSC 48 Back Deck Tray	jeweils 1	AS8402
Microtube, 1,5 ml	1.000/Pck.	V1231

*Für den Einsatz in der In-vitro-Diagnostik. Dieses Produkt ist nur in bestimmten Ländern erhältlich.

Maxwell® CSC Reagent Kits

Eine Liste der verfügbaren Maxwell® CSC Purification Kits finden Sie unter www.promega.com.

15. Änderungsübersicht

Folgende Änderungen wurden an der Version dieses Dokuments vom Oktober 2022 vorgenommen:

1. Abschnitt 3 umbenannt zu Verwendungszweck des Produkts.
2. Abschnitte 9 und 10 wurden hinzugefügt und nachfolgende Abschnitte neu nummeriert.
3. Dokument aktualisiert, um die Einhaltung der Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika zu gewährleisten.

^(a)US-Pat. Nr. 7,329,488 und S. Korean Pat. Nr. 100483684.

© 2014–2022 Promega Corporation. Alle Rechte vorbehalten.

Maxwell ist eine Marke der Promega Corporation.

LpH ist eine Marke der Steris Corporation.

Die Produkte können angemeldeten oder erteilten Patenten oder bestimmten Einschränkungen unterliegen. Weitere Informationen finden Sie auf unserer Website.

Alle Preise und technischen Daten können ohne vorherige Ankündigung geändert werden.

Änderungen zu Produktansprüchen bleiben vorbehalten. Bitte wenden Sie sich an Promega Technical Services oder rufen Sie den Online-Katalog von Promega auf, um die aktuellsten Informationen zu Promega-Produkten zu erhalten.