

August 2017

RNeasy[®] DSP FFPE Kit

Gebrauchsanweisung (Handbuch)



50

Version 1
In-vitro-Diagnostikum



In-vitro-Diagnostikum



73604



QIAGEN GmbH, QIAGEN Straße 1, 40724 Hilden, Deutschland



1106945DE

Inhaltsverzeichnis

Verwendungszweck	3
Zusammenfassung und Erläuterung	3
Verfahrensprinzip	4
Mitgelieferte Materialien.....	6
Kit-Inhalt	6
Erforderliche, nicht mitgelieferte Materialien	7
Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen	8
Lagerung und Handhabung der Reagenzien	10
Kitkomponenten	10
Wichtige Hinweise	11
Vorbereitung der Puffer	12
Verfahren	14
Protokoll: Aufreinigung der Gesamt-RNA aus FFPE-Gewebeschnitten	15
Qualitätskontrolle.....	19
Anwendungseinschränkungen	19
Symbole	20
Hilfe zur Fehlerbehebung.....	22
Anhang: Allgemeine Hinweise zur Handhabung von RNA	25
Bestellinformationen	27

Verwendungszweck

Das RNeasy DSP FFPE Kit ist ein System für die Aufreinigung der Gesamt-RNA aus in formalinfixierten, paraffineingebetteten (formalin-fixed, paraffin embedded, FFPE) Gewebeschnitten.

Das Produkt darf nur von sachkundigen Personen, z. B. technischen Angestellten oder Ärzten verwendet werden, die in der Anwendung molekularbiologischer Methoden geschult sind.

Es wird ein optimiertes Protokoll mit Spin-Säulen auf Kieselgelbasis eingesetzt, das auch die enzymatische Entfernung von DNA-Rückständen umfasst.

Das RNeasy DSP FFPE Kit ist als In-vitro-Diagnostikum vorgesehen.

Zusammenfassung und Erläuterung

Das RNeasy DSP FFPE Kit wurde speziell für die Aufreinigung der Gesamt-RNA aus formalinfixierten, paraffineingebetteten (FFPE) Gewebeschnitten entwickelt. Durch Isolierung von RNA-Moleküle mit mindestens 70 Nukleotiden kann das Kit RNA-Fragmente wiederherstellen, die sich für Anwendungen wie RT-PCR eignen.

Nukleinsäuren in FFPE-Proben sind wegen der Fixierungs- und Einbettungsbedingungen gewöhnlich fragmentiert und durch Formaldehyd chemisch modifiziert. Daher besitzen Nukleinsäuren, die aus FFPE-Proben isoliert werden, in der Regel ein niedrigeres Molekulargewicht als Nukleinsäuren aus frischen oder gefrorenen Proben. Der Grad der Fragmentierung hängt von der Art und vom Alter sowie den Fixierungs-, Einbettungs- und Lagerbedingungen der Probe ab. Zur Standardisierung von Prozessen vor der Untersuchung von FFPE-Gewebe empfehlen wir, gemäß CEN-Standard CEN/TS 16827-1_2015 vorzugehen.

Modifikationen durch Formaldehyd können zwar nicht in Standard-Qualitätskontrolltests (wie beispielsweise Gel-Elektrophorese oder Lab-on-a-chip-Analysen) nachgewiesen werden, sie stören die enzymatischen Analysen trotzdem erheblich.

Das RNeasy DSP FFPE Kit wurde so zwar mit dem Ziel entwickelt, so viele Formaldehydmodifikationen wie möglich rückgängig zu machen, ohne die RNA weiter abzubauen, aus FFPE-Proben aufgereinigte Nukleinsäuren sollten nicht für nachfolgende Anwendungen verwendet werden, für die RNA in voller Länge benötigt wird. Einige Anwendungen müssen unter Umständen für die Verwendung von fragmentierter RNA modifiziert werden (z. B. durch Verwendung kleinerer Amplikons für RT-PCR). Zur cDNA-Synthese sollten statt oligo-dT-Primern entweder zufällige oder genspezifische Primer verwendet werden.

Die Färbung von FFPE-Schnitten kann außerdem die Qualität und Leistungsmerkmale der RNA in nachfolgenden Anwendungen beeinträchtigen. Dies gilt insbesondere für viele immunhistochemische Färbeprotokolle.

Verfahrensprinzip

Das RNeasy DSP FFPE-Verfahren stützt sich auf die gut etablierte RNeasy Technologie für die Aufreinigung von RNA. Besonders optimierte Lysebedingungen erlauben eine effektive Aufreinigung der Gesamt-RNA aus FFPE-Gewebeschnitten. Im Verdauungsschritt mit DNase I werden DNA-Kontaminationen effizient entfernt, einschließlich hochfragmentierte Moleküle.

Zuerst wird durch Behandlung mit Entparaffinisierungslösung das Paraffin vollständig aus frischen FFPE-Gewebeschnitten entfernt. Dann werden die Proben in einem optimierten Lysepuffer inkubiert, der Proteinase K enthält, um RNA aus den Gewebeschnitten freizusetzen. Eine kurze Inkubation bei einer höheren Temperatur hebt die Formalin-Quervernetzung der freigesetzten Nukleinsäuren teilweise auf, was die Ausbeute und Qualität sowie die Leistungsmerkmale der RNA in nachfolgenden enzymatischen Assays verbessert. Darauf folgt die Behandlung mit DNase I. Diese wurde optimal auf die Entfernung von genomischer DNA eingestellt, insbesondere auch sehr kleiner DNA-

Fragmente, die bei FFPE-Proben nach längerer Formalin-Fixierung und/oder längerer Lagerzeit häufig vorkommen. Im nächsten Schritt wird das Lysat mit RBC-Puffer gemischt. Ethanol wird hinzugefügt, um geeignete Bindungsbedingungen für RNA zu schaffen. Dann wird die Probe auf die RNeasy MinElute Spin-Säule aufgetragen. Hier bindet die gesamte RNA an die Membran, und Kontaminationen werden effizient gewegewaschen. Anschließend wird RNA in mindestens 14 µl RNasefreiem Wasser eluiert.

RNeasy DSP FFPE-Verfahren

FFPE-Gewebeschnitte



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

Mitgelieferte Materialien

Kit-Inhalt

RNeasy DSP FFPE Kit			(50)
Katalog-Nr.			73604
Anzahl der Präparationen			50
	Identität	Symbole	Menge
RNeasy MinElute Spin	RNeasy MinElute® Spin Columns (RNeasy MinElute® Spin-Säulen) (rosa) (jeweils in einem 2-ml-Sammelröhrchen)	COL	50
ET	Elution Tubes (Elutionsröhrchen) (1,5 ml)	ELU TUBE	50
LT	Lysis Tubes (Lyseröhrchen) (2 ml)	LYS TUBE	150
WT	Wash Tubes (Waschröhrchen) (2 ml)	WASH TUBE	250
DPS	Deparaffinization Solution (Entparaffinisierungslösung)	DEPAR SOL	20 ml
RBC	Buffer RBC* (RBC-Puffer)	BIND BUF	45 ml
PKD	Buffer PKD (PKD-Puffer)	PROTK DIL	15 ml
PK	Proteinase K	PROTK	1,25 ml
DN	RNase-Free DNase I (RNase-freie DNase I) (lyophilisiert)	DNase	1
RNFW	RNase-Free Water (RNase-freies Wasser)	ELU DIL	3 x 1,5 ml
DBB	DNase Booster Buffer (DNase-unterstützender Puffer)	DNase BUF	2 ml
RPE	Buffer RPE† (RPE-Puffer) (Konzentrat)	WASH BUF CONC	11 ml
HB, v1	RNeasy DSP FFPE Kit Handbuch		1

*Enthält ein Guanidinsalz. Nicht mit Desinfektionsmitteln in Kontakt bringen, die Chlorbleiche (Natriumhypochlorit, NaOCl) enthalten. Auf Seite 8 finden Sie weitere Sicherheitshinweise.

†Geben Sie vor dem ersten Gebrauch wie auf der Flasche angegeben und auf Seite 12 beschrieben 4 Volumeneinheiten Ethanol (96-100 %) zu, um eine Gebrauchslösung herzustellen.

Erforderliche, nicht mitgelieferte Materialien

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

Stellen Sie sicher, dass die Geräte gemäß den Herstellerempfehlungen geprüft und kalibriert wurden.

- Sterile, RNase-freie Pipettenspitzen und Pipetten
- Mikrozentrifuge (mit Rotor für 2-ml-Röhrchen)
- Vortexmischer
- 100 % Ethanol (Es darf kein denaturierter Alkohol verwendet werden, der andere Stoffe, wie z. B. Methanol oder Methyläthylketon, enthält)
- Einweghandschuhe
- Heizblock mit Schüttelfunktion für eine Inkubation bei 56 °C und 80 °C

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum

Lesen Sie alle Anweisungen vor Verwendung des Kits genau durch.

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien stets einen geeigneten Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern (MSDS) entnehmen. Zu jedem QIAGEN Kit und zu jeder Kitkomponente können Sie das jeweilige Sicherheitsdatenblatt im PDF-Format online unter www.qiagen.com/safety abrufen, einsehen und ausdrucken.

ACHTUNG

Verletzungsgefahr



Es dürfen KEINE Hypochlorit- oder sauren Lösungen direkt zum Probenvorbereitungsabfall zugegeben werden.

Puffer des RNeasy DSP FFPE Kits enthalten Natriumazid. Wenn Puffer aus dem Kit verschüttet wird, reinigen Sie mit einem geeigneten Laborreinigungsmittel und Wasser. Wenn die verschüttete Flüssigkeit potenziell infektiöse Stoffe enthält, reinigen Sie die Fläche zuerst mit Laborreinigungsmittel und Wasser und danach mit 1 % (v/v) Natriumhypochlorit.

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

PKD, RPE, RNF, DBB

Enthält: Natriumazid. Achtung! Kann bei Verschlucken gesundheitsschädlich sein. Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.

DSP



Enthält: Hexadecan. Gefahr! Kann bei Verschlucken und Eindringen in die Atemwege tödlich sein. Wiederholter Kontakt kann zu spröder oder rissiger Haut führen. Inhalt/Behälter einem zugelassenen Abfallentsorgungsdienst zuführen. KEIN Erbrechen herbeiführen. BEI VERSCHLUCKEN: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. Unter Verschluss aufbewahren.

Proteinase K



Enthält: Proteinase K. Gefahr! Verursacht leichte Hautreizungen. Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen. Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. Inhalt/Behälter einem zugelassenen Abfallentsorgungsdienst zuführen. Bei Symptomen der Atemwege: GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. BEI EINATMEN: Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. Atemschutz tragen.

DNase I



Enthält: Desoxyribonuklease. Gefahr! Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen. Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. Inhalt/Behälter einem zugelassenen Abfallentsorgungsdienst zuführen. Bei Symptomen der Atemwege: GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. BEI EINATMEN: Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Atemschutz tragen.

RBC



Enthält: Guanidinhydrochlorid. Achtung! Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Einatmen. Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenreizung. Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. Inhalt/Behälter einem zugelassenen Abfallentsorgungsdienst zuführen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

DBB



Enthält: Calciumchlorid; Hydrogenchlorid. Achtung! Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenreizung. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Behutsam mit viel Wasser und Seife waschen. Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

Lagerung und Handhabung der Reagenzien

RNase-freie DNase I und RNeasy MinElute Spin-Säulen müssen unmittelbar bei Ankunft bei 2 bis 8 °C gelagert werden. Die Puffer können bei Raumtemperatur (15–25 °C) gelagert werden. Bei diesen Bedingungen kann das Kit bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum ohne Leistungseinbußen aufbewahrt werden.

Das RNeasy DSP FFPE Kit darf nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden.

Kitkomponenten

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

Zur Langzeitlagerung von DNase I nach der Rekonstitution teilen Sie die Stammlösung aus dem Röhrchen in Aliquots für die Einmalverwendung auf und bewahren Sie diese bei -15 bis -30 °C bis zu 9 Monate lang auf. Aufgetaute Aliquote können bis zu 6 Wochen bei 2 bis 8 °C gelagert werden. Nach dem Auftauen dürfen die Aliquote nicht wieder eingefroren werden.

Setzen Sie die Reagenzien nicht UV-Licht aus (z. B. von einer UV-Dekontaminationslampe), da eine solche Exposition die Alterung beschleunigen kann.

Wichtige Hinweise

Ausgangsmaterial

Standardmäßige Verfahren zur Fixierung in Formalin und Einbettung in Paraffin führen immer zu erheblicher Fragmentierung und Vernetzung der Nukleinsäuren. Um das Ausmaß der Fragmentierung und Vernetzung der Nukleinsäuren zu begrenzen, gehen Sie wie folgt vor:

- Die Dicke der verwendeten Gewebeproben sollte unter 5 mm liegen, damit das Formalin die Probe vollständig durchdringen kann.
- Fixieren Sie die Gewebeproben nach der chirurgischen Entnahme so schnell wie möglich in 4-10 % neutral gepuffertem Formalin.
- Fixieren Sie die Proben maximal 24 Stunden lang. (Eine längere Fixierdauer kann zu übermäßiger Fixierung und schwerer Nukleinsäurefragmentierung führen, was die Leistungsmerkmale bei nachfolgenden Assays beeinträchtigt.)
- Dehydrieren Sie die Proben vor dem Einbetten gründlich.
- Verwenden Sie für die Einbettung Paraffin mit niedrigem Schmelzpunkt.

Das Startmaterial für die RNA-Aufreinigung sollte aus frischen FFPE-Gewebeschnitten mit einer Dicke bis zu 20 µm bestehen. Bei dickeren Gewebeschnitten kann – auch nach längerer Inkubation mit Proteinnase K – die Nukleinsäureausbeute erniedrigt sein. Es können bis zu vier Gewebeschnitte mit einer Dicke bis zu 10 µm in einer Präparation kombiniert werden. Beträgt die Gesamtsumme der Dicke der Gewebeschnitte unter 40 µm (z. B. acht 5-µm-dicke Schnitte), dann können mehr als vier Gewebeschnitte kombiniert werden.

Ist der DNA-Gehalt im Gewebe besonders hoch, empfehlen wir die Verwendung von weniger Gewebeschnitten pro Präparation, um eine DNA-Kontamination der aufgereinigten RNA zu vermeiden.

Wenn Ihnen keine Informationen über die Art Ihres Ausgangsmaterials vorliegen, empfehlen wir, mit höchstens zwei Gewebeschnitten pro Präparation zu beginnen. Bei nachfolgenden Präparationen können Sie dann je nach RNA-Ausbeute und -Reinheit bis zu vier Gewebeschnitte verwenden. Ein Überladen der RNeasy MinElute Spin-Säule kann die RNA-Ausbeute und -Qualität allerdings erheblich beeinträchtigen.

Vorbereitung der Puffer

Vorbereitung der DNase-I-Stammlösung

Um DNase-I-Stammlösung zuzubereiten, lösen Sie lyophilisierte DNase I in 550 µl RNase-freiem Wasser. Öffnen Sie das Röhrchen nicht, um keine DNase I zu verlieren. Injizieren Sie RNase-freies Wasser mit einer RNase-freien Nadel und Spritze in das Röhrchen. Mischen Sie das Röhrchen vorsichtig durch Schwenken und Umdrehen. Nicht mit einem Vortexer mischen.

In einigen Fällen kann das Röhrchen mit DNase I leer aussehen. Dies ist dann der Fall, wenn das lyophilisierte Enzym am Septum haftet. Öffnen Sie das Röhrchen nicht, um keine DNase I zu verlieren. Lösen Sie stattdessen DNase I mit einer Nadel und einer Spritze wie unten beschrieben.

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

Hinweis: Es muss sorgfältig darauf geachtet werden, dass das Volumen des RNase-freien Wassers vollständig in das Röhrchen injiziert wird.

Nach dem Lösen der DNase I kann unlösliches Material übrig bleiben, das beim Herstellungsprozess der lyophilisierten DNase I entstanden sein kann. Die Leistungsmerkmale der DNase I sind davon nicht betroffen.

Zur Langzeitlagerung von DNase I verteilen Sie die Stammlösung aus dem Röhrchen in Aliquots für die Einmalverwendung und bewahren Sie diese bei -15 bis -30 °C bis zu neun Monate lang auf. Aufgetaute Aliquote können bis zu 6 Wochen bei 2 bis 8 °C gelagert werden. Nach dem Auftauen dürfen die Aliquote nicht wieder eingefroren werden.

Vorbereitung des RPE-Puffers

Geben Sie 4 Volumeneinheiten (44 ml) Ethanol (96–100 %) in die Flasche mit 11 ml RPE-Pufferkonzentrat. Markieren Sie das Kontrollkästchen auf dem Flaschenetikett, damit ersichtlich ist, dass Ethanol zugegeben wurde.

Hinweis: Mischen Sie, bevor Sie mit dem Verfahren beginnen, den rekonstituierten RPE-Puffer, indem Sie ihn schütteln.

Verfahren

Wichtige Hinweise, die vor der Durchführung zu beachten sind

- Lesen Sie vor der ersten Verwendung des RNeasy DSP FFPE Kits bitte „Wichtige Hinweise“ (Seite 11)
- Lesen Sie bitte vor dem ersten Arbeiten mit RNA „Anhang: Allgemeine Hinweise zur Handhabung von RNA“ (Seite 25).
- RBC-Puffer enthält ein Guanidinsalz und ist somit nicht mit hypochlorithaltigen Desinfektionsreagenzien verträglich. Auf Seite 8 finden Sie weitere Sicherheitshinweise.
- Wenn nicht anders angegeben, sind alle Schritte des Verfahrens bei Raumtemperatur (15–25 °C) durchzuführen. Arbeiten Sie zügig und legen Sie zwischendurch keine Pausen ein.
- Alle Zentrifugationsschritte sind bei 15-25 °C durchzuführen. Wenn Sie eine gekühlte Mikrozentrifuge verwenden, stellen Sie die Temperatur auf 20-25 °C ein, da die Proben sonst möglicherweise signifikant unter 15 °C gekühlt werden.
- Im unten beschriebenen Verfahren verweist ▲ auf die zu verwendenden Volumina bei Verarbeitung von 1–2 Schnitten pro Probe, ● verweist auf die zu verwendenden Volumina bei Verarbeitung von > 3-4 Schnitten pro Probe.
- Vor der ersten Verwendung müssen RPE-Puffer und RNase-freie DNase I rekonstituiert werden wie unter „Vorbereitung der Puffer“ (Seite 12) beschrieben.
- Lassen Sie alle Puffer auf Raumtemperatur (15–25 °C) erwärmen. Mischen Sie rekonstituierten RPE-Puffer durch Schütteln.
- Stellen Sie einen Heizmischer für den Einsatz in Schritten 5 bis 9 auf 56 °C ein. Zur Senkung der Wartezeiten stellen Sie außerdem für Schritt 9 einen zweiten Heizmischer auf 80 °C ein.
- **Hinweis:** Während der Aufreinigung dürfen keine Pausen eingelegt werden, da erhöhte Inkubationszeiten unter Umständen zu einem Verlust oder Abbau der RNA führen können. Die durchschnittliche Verarbeitungszeit für bis zu 12 parallele Proben beträgt ungefähr 130 Min.

Protokoll: Aufreinigung der Gesamt-RNA aus FFPE-Gewebeschnitten

1. Schneiden Sie mit einem Skalpell überschüssiges Paraffin vom Probenblock ab.
 2. Fertigen Sie 5–20- μm -dicke Schnitte an.
Falls die Probenoberfläche Luft ausgesetzt war, verwenden Sie die ersten 2–3 Schnitte nicht.
 3. Legen Sie die Gewebeschnitte sofort in ein ▲ 1,5-ml- oder ● 2-ml-Mikrozentrifugenröhrchen und schließen Sie den Deckel.
 4. Geben Sie ▲ 160 μl oder ● 320 μl Entparaffinierungslösung zu, mischen Sie die Ansätze 10 Sekunden lang kräftig mit dem Vortexmischer und zentrifugieren Sie sie kurz, um die Proben auf den Boden der Röhrchen zu bringen.
 5. Inkubieren Sie 3 min lang bei 56 °C. Dann lassen Sie die Proben 5 min lang bei Raumtemperatur abkühlen.
Wurde zu wenig Entparaffinierungslösung zugesetzt bzw. wird zu viel Paraffin in die Probe verschleppt, kann die Entparaffinierungslösung nach dem Abkühlen wachsartig bzw. fest werden. Geben Sie in diesem Fall zusätzliche Entparaffinierungslösung in 160- μl -Schritten hinzu und wiederholen Sie Schritt 5.
 6. Geben Sie ▲ 150 μl oder ● 240 μl PKD-Puffer hinzu, und mischen Sie die Röhrchen 3 Sekunden lang mit dem Vortexmischer.
 7. Zentrifugieren Sie die Röhrchen 1 Minute lang bei 11.000 $\times g$.
 8. Geben Sie 10 μl Proteinase K zur unteren, klaren Phase und mischen Sie die Phase durch 10-maliges vorsichtiges Auf- und Abpipettieren – die getrennten Phasen dürfen dabei nicht vermischt werden.
 9. 15 min bei 56 °C und 1.100 U/min inkubieren, dann 15 min bei 80 °C und 1.100 U/min.
Wenn Sie nur einen Heizblock verwenden, lassen Sie die Probe nach der Inkubation bei 56 °C bei Raumtemperatur stehen, bis sich der Block auf 80 °C erwärmt hat.
- Hinweis:** Für maximale RNA-Ausbeuten ist eine vollständige Verdauung mit Proteinase K nicht erforderlich. Der Inkubationsschritt bei 80 °C ist trotzdem entscheidend wichtig.

WICHTIG: Beginnen Sie die 15-minütige Inkubation erst dann, wenn der Heizblock 80 °C erreicht hat. Die 15-minütige Inkubation bei 80 °C ist entscheidend wichtig für die Aufhebung von Formaldehyd-Quervernetzungen und die Optimierung der RNA-Leistungsmerkmale für die nachfolgenden Anwendungen wie beispielsweise Realtime-RT-PCR.

10. Nach einer kurzen Zentrifugation übertragen Sie ▲ 145 µl oder ● 230 µl der unteren, ungefärbten Phase in ein neues 1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen.
11. Inkubieren Sie die Ansätze 3 min lang auf Eis. Dann zentrifugieren Sie sie 15 min bei 20.000 x g.
12. Übertragen Sie den Überstand in ein neues 2-ml-Mikrozentrifugenröhrchen. Achten Sie dabei darauf, das Pellet nicht aufzuwirbeln.
Das Pellet enthält unlösliche Gewebereste, einschließlich quervernetzter DNA.
13. Fügen Sie DNase Booster Puffer entsprechend einem Zehntel des Gesamtvolumens der Probe (▲ 14,5 µl oder ● 23 µl) und 10 µl DNase I Stammlösung hinzu. Mischen Sie den Inhalt des Röhrchens durch Schwenken und Umdrehen. Zentrifugieren Sie das Röhrchen kurz, damit sich die restliche Flüssigkeit von den Wänden des Röhrchens sammelt.
Hinweis: DNase I wird lyophilisiert geliefert und sollte wie unter „Vorbereitung der DNase-I-Stammlösung“ 12 beschrieben rekonstituiert werden.
Hinweis: DNase I ist besonders anfällig für Denaturierung. Mischen Sie nur durch vorsichtiges Schwenken und Umdrehen des Röhrchens. Nicht mit einem Vortexer mischen.
14. Inkubieren Sie die Röhrchen 15 min bei Raumtemperatur.
15. Fügen Sie ▲ 320 µl oder ● 500 µl RBC-Puffer hinzu, um die Bindungsbedingungen anzupassen. Mischen Sie das Lysat gründlich 3 Sekunden lang mit dem Vortexmischer und zentrifugieren Sie es kurz.
16. Fügen Sie ▲ 720 µl oder ● 1200 µl Ethanol (100 %) zur Probe. Es darf nicht zentrifugiert werden. Fahren Sie sofort mit Schritt 17 fort.
Nach Zugabe von Ethanol kann Niederschlag sichtbar sein. Dies hat keinen Einfluss auf das Verfahren.

17. Mischen Sie die Probe gründlich durch 5-maliges Auf- und Abpipettieren. Übertragen Sie dann 700 µl Probe einschließlich jeglichen eventuell gebildeten Niederschlags zu einer RNeasy MinElute Spin-Säule in einem 2-ml-Sammelröhrchen. Schließen Sie vorsichtig den Deckel und zentrifugieren Sie 15 Sekunden lang bei $\geq 8.000 \times g$. Entsorgen Sie das Eluat im Sammelröhrchen* und setzen Sie die Säule in ein neues Röhrchen (im Lieferumfang enthalten).
18. Wiederholen Sie Schritt 17 (ohne zusätzliches Mischen) bis die gesamte Probe die RNeasy MinElute Spin-Säule passiert hat.
19. Geben Sie 500 µl RPE-Puffer auf die RNeasy MinElute Spin-Säule. Schließen Sie vorsichtig den Deckel und zentrifugieren Sie 15 Sekunden lang bei $\geq 8.000 \times g$. Entsorgen Sie das Eluat* im Sammelröhrchen und setzen Sie die Säule in ein neues Röhrchen (im Lieferumfang enthalten).

Hinweis: Der RPE-Puffer liegt als Konzentrat vor. Achten Sie darauf, dass vor der Verwendung Ethanol hinzugefügt worden ist wie unter „Vorbereitung des RPE-Puffers“ beschrieben.

20. Geben Sie 500 µl RPE-Puffer auf die RNeasy MinElute Spin-Säule. Schließen Sie vorsichtig den Deckel und zentrifugieren Sie 2 min bei $\geq 8.000 \times g$, um die Membran der Spin-Säule zu waschen. Entsorgen Sie das Eluat im Sammelröhrchen† und setzen Sie die Säule in ein neues Röhrchen (im Lieferumfang enthalten).

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

* Das Eluat enthält RBC-Puffer und ist daher nicht mit Hypochlorit kompatibel. Auf Seite 8 finden Sie weitere Sicherheitshinweise.

† Das Eluat enthält RBC-Puffer und ist daher nicht mit Hypochlorit kompatibel. Auf Seite 8 finden Sie weitere Sicherheitshinweise.

21. Öffnen Sie den Deckel der Spin-Säule und zentrifugieren Sie 5 Min. lang bei maximaler Drehzahl. Entsorgen Sie das Sammelröhrchen mit dem Eluat.

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

Die Membran der Spin-Säule muss unbedingt getrocknet werden, da Ethanolrückstände die nachfolgenden Reaktionen stören können. Durch das Zentrifugieren der Spin-Säulen mit geöffneten Deckeln wird sichergestellt, dass bei der RNA-Elution kein Ethanol verschleppt wird.

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

Eine Elution mit einem kleineren RNase-freiem Wasservolumen führt zu höheren RNA-Gesamtkonzentrationen, aber auch niedrigeren RNA-Ausbeuten.

Hinweis: Werden sowieso niedrige RNA-Ausbeuten erwartet, wird ein Röhrchen mit niedriger RNA-Bindung für die Elution empfohlen (nicht im Lieferumfang enthalten).

Das mittlere Totvolumen der RNeasy MinElute Spin-Säule beträgt 2 µl: Eine Elution mit 14 µl RNase-freiem Wasser ergibt ungefähr 12 µl Eluat.

23. Bewahren Sie RNA-Eluat bei -60 bis -90 °C oder bei -15 bis -30 °C bis zu 8 Wochen lang auf.

Qualitätskontrolle

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

Anwendungseinschränkungen

Die Leistungscharakteristik des Systems wurde im Rahmen von Bewertungsstudien mit gereinigter, humaner RNA aus formalinfixierten, paraffineingebetteten Proben ermittelt.

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Leistungscharakteristik des Systems für jede Methode, die im Labor des Anwenders angewandt wird, aber nicht im Rahmen einer Bewertungsstudie von QIAGEN untersucht wurde, selbst zu validieren.

Um das Risiko einer negativen Auswirkung auf die diagnostischen Ergebnisse zu minimieren, müssen in den nachfolgenden Anwendungen geeignete Kontrollen mitgeführt werden.

Alle mit dem System erhaltenen diagnostischen Ergebnisse müssen im Zusammenhang mit anderen klinischen und/oder Laborergebnissen interpretiert werden.

Symbole

Die Symbole in der folgenden Tabelle werden in dieser Gebrauchsanweisung verwendet.



<N>

Kit enthält Reagenzien für <N> Reaktionen



Verwendbar bis



In-vitro-diagnostisches Medizinprodukt



Nach Lieferung



DN



RNeasy MinElute Spin



Katalognummer



Chargennummer



Materialnummer (d. h. Kennzeichnung von Komponenten)



Komponenten (d. h. eine Inhaltsliste)

CONT

Inhalt

NUM

Anzahl (d. h. Gefäße, Flaschen)

GTIN

Internationale Artikelnummer

Rn

R = Revision der Gebrauchsanleitung (Handbuch);
n = Revisionsnummer



Zulässiger Temperaturbereich



Hersteller



Gebrauchsanleitung beachten



Vorsicht

PROTK

Proteinase K

Sodium azide

Natriumazid

Hilfe zur Fehlerbehebung

In diesem Abschnitt zur Fehlerbehebung finden Sie hilfreiche Informationen zur Behebung möglicher Probleme. Weitere Informationen finden Sie auf der Seite „Frequently Asked Questions“ (Häufig gestellte Fragen) unseres Support-Centers unter:

www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Darüber hinaus steht Ihnen unser QIAGEN Technischer Service unterstützend zur Seite, falls Sie Fragen zum Protokoll oder zu anderen Angaben in diesem Handbuch haben sollten (Kontaktinformationen siehe unter **www.qiagen.com**). Das Team besteht aus erfahrenen Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern, die Ihnen in allen molekularbiologischen Fragen gerne weiterhelfen.

Kommentare und Vorschläge

Verstopfte RNeasy MinElute Spin-Säulen

- | | | |
|----|--------------------------------------|--|
| a) | zu viel Ausgangsmaterial | Verringern Sie die Menge des Ausgangsmaterials. Es ist wichtig, die korrekte Menge an Ausgangsmaterial zu verwenden (siehe Seite 11). |
| b) | Zentrifugationstemperatur zu niedrig | Die Zentrifugationstemperatur sollte bei 15–25 °C liegen. Einige Zentrifugen können bis auf unter 15 °C abkühlen, sogar wenn sie auf 20 °C eingestellt sind. Auf diese Weise kann sich Niederschlag bilden, der die RNeasy MinElute Spin-Säulen verstopft. Stellen Sie in diesem Fall die Zentrifugationstemperatur auf 25 °C ein. |

Zu niedrige RNA-Ausbeute

- | | | |
|----|---|--|
| a) | schlechte Qualität des Ausgangsmaterials | Proben, die länger als 24 Stunden lang fixiert bzw. sehr lang gelagert worden sind, enthalten unter Umständen sehr wenig nutzbare RNA. Der RNA-Gehalt von Gewebeschnitten, die für die Mikroskopie auf Objektträgern montiert wurden, kann wegen der längeren Exposition gegenüber Luft sehr niedrig sein. |
| b) | zu viel Ausgangsmaterial | Eine Überladung der RNeasy MinElute Spin-Säulen senkt die Nukleinsäureausbeuten erheblich. Verringern Sie die Menge des Ausgangsmaterials (siehe Seite 11). |
| c) | RNA immer noch an der Membran der RNeasy MinElute Spin-Säule gebunden | Wiederholen Sie die RNA-Elution, aber inkubieren Sie die RNeasy Min Elute Spin-Säule vor der Zentrifugation 10 Minuten lang mit RNFV auf der Laborbank. |

Kommentare und Vorschläge

- d) falsche Lagerung von Puffern/Reagenzien
RNeasy MinElute Spin-Säulen sowie DNase I müssen nach der Ankunft des Kits bei 2 bis 8 °C gelagert werden. Prüfen Sie die korrekten Lagertemperaturen, da die Exposition gegenüber höheren Temperaturen über längere Zeit zu einem Verlust von Funktionalität führen kann.

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

- a) für die A_{260}/A_{280} -Messung wurde die Nukleinsäure mit Wasser verdünnt
Verwenden Sie 10 mM Tris-Cl (pH 7,5) und nicht Wasser, um die Probe zur Reinheitsmessung zu verdünnen.

DNA-Kontamination in nachfolgenden Experimenten

- a) zu viel Ausgangsmaterial
Bei einigen Gewebetypen ist die Effizienz der DNA-Entfernung unter Umständen niedriger, wenn sehr hohe Mengen verarbeitet werden. Wenn die eluierte RNA erheblich mit DNA kontaminiert ist, sollten Sie versuchen, weniger Gewebeschnitte pro Präparation zu verwenden.
- b) Gewebe hat hohen DNA-Gehalt
Bei Verarbeitung von sehr großen Mengen an DNA-reichem Gewebe (z. B. Thymus) kann die DNA unter Umständen nicht vollständig verdaut werden. Wiederholen Sie das Aufreinigungsverfahren mit weniger Gewebeschnitten. Prüfen Sie, dass die DNase I wie unter „Lagerung und Handhabung der Reagenzien“ und „Vorbereitung der DNase-I-Stammflüssigkeit“ beschrieben korrekt gelagert wird.
- c) unzureichende RNA-Menge für die reverse Transkription
Die meisten reversen Transkriptasen sind für ungefähr 1 µg RNA vorgesehen. Wird eine reverse Transkription mit sehr kleinen RNA-Mengen durchgeführt, empfehlen wir eine speziell für hochempfindliche reverse Transkriptionen entwickelte reverse Transkriptase.

Leistungsmerkmale der RNA reichen nicht für nachfolgende Assays/Anwendungen

- a) RNA ist in Folge von Formaldehydmodifikationen fragmentiert oder blockiert
Die Inkubation bei 80 °C im Rahmen des RNeasy DSP FFPE Verfahrens ist entscheidend wichtig zur Optimierung der RNA-Leistungsmerkmale bei reversen Transkriptionen oder anderen nachfolgenden enzymatischen Anwendungen. Achten Sie darauf, dass die Inkubationstemperatur während der gesamten 15-minütigen Inkubationszeit bei 80 °C gehalten wird. Durch Inkubation bei 80 °C werden einige der Formaldehydmodifikationen entfernt. Aus FFPE-Gewebeschnitten gereinigte RNA ist jedoch kein optimales Template für enzymatische Reaktionen. Wir empfehlen, nur zufällige oder genspezifische Primer zur cDNA-Synthese zu verwenden. Wir empfehlen außerdem, Amplikons für die PCR so kurz wie möglich zu halten (<500 Nukleotide).
- b) Ethanolverschleppung
Beim zweiten Waschen mit RPE-Puffer müssen Sie die RNeasy MinElute Spin-Säulen 2 Minuten lang bei $\geq 8,000 \times g$ und 15–25 °C zentrifugieren, um die Membran zu trocknen. Nehmen Sie die RNeasy Säule nach der Zentrifugation vorsichtig aus dem Sammelröhrchen heraus und achten Sie dabei darauf, dass die Säule nicht mit dem Eluat in Berührung kommt. Setzen Sie die Säule in ein neues Sammelröhrchen und zentrifugieren Sie sie 5 Minuten lang bei maximaler Drehzahl.

Kommentare und Vorschläge

- | | |
|--|--|
| c) Salzverschleppung bei RNA-Elution | Achten Sie darauf, dass der RPE-Puffer mit dem korrekten Ethanolvolumen rekonstituiert worden ist und dass sich der Puffer bei Raumtemperatur (15-25 °C) befindet. |
| d) unzureichende RNA-Menge für die reverse Transkription | Die meisten reversen Transkriptasen sind für ungefähr 1 µg RNA vorgesehen. Wird eine reverse Transkription mit sehr kleinen RNA-Mengen durchgeführt, empfehlen wir eine speziell für hochempfindliche reverse Transkriptionen entwickelte reverse Transkriptase. |

Anhang: Allgemeine Hinweise zur Handhabung von RNA

Arbeiten mit RNA

Ribonukleasen (RNasen) sind sehr stabile und aktive Enzyme, die üblicherweise keine Cofaktoren für ihre Funktion benötigen. Da RNasen schwer zu deaktivieren sind und schon winzige Mengen ausreichen, um RNA zu zerstören, dürfen keine Artikel aus Glas oder Kunststoff verwendet werden, ohne vorher erst eine mögliche Kontamination mit RNasen zu eliminieren. Es sollte sorgfältig darauf geachtet werden, dass während und nach dem Aufreinigungsverfahren keine RNase unbeabsichtigt in die RNA-Probe eingeschleppt wird. Um ein RNase-freies Umfeld zu schaffen und zu erhalten, müssen beim Arbeiten mit RNA folgende Vorsichtsmaßnahmen bei der Vorbehandlung und bei der Verwendung von Einmal- und Mehrweg-Gefäßen und Lösungen eingehalten werden.

Allgemeine Handhabung

Beim Arbeiten mit RNA sollten stets angemessene mikrobiologische und aseptische Arbeitsweisen verwendet werden. Hände und Staubpartikel können Bakterien und Schimmelpilze tragen und sind die häufigste Ursache für eine Kontamination mit RNase. Tragen Sie daher stets Latex- oder Vinylhandschuhe, wenn Sie mit Reagenzien oder RNA-Proben arbeiten, um eine Kontamination mit RNase über die Hautoberfläche oder durch staubige Laborgeräte zu vermeiden. Wechseln Sie die Einmal-Handschuhe häufig und halten Sie Röhrchen möglichst immer verschlossen. Halten Sie die aufgereinigte RNA auf Eis, wenn Sie sie für nachfolgende Applikationen Aliquote pipettieren.

Für die Entfernung von RNase-Kontaminationen von Laborbankoberflächen, Mehrweg-Kunststoffartikeln und Laborgeräten (z. B. Pipetten und Elektrophoresetanks) wird RNaseZap® (Bestell-Nr. AM9780) von Ambion® empfohlen. Alternativ können RNase-Kontaminationen allgemeinen Laborreagenzien entfernt werden. Zur Dekontamination von Kunststoffartikeln spülen sie zunächst mit 0,1 M NaOH, 1 mM EDTA und anschließend mit RNase-freiem

Wasser (siehe „Lösungen“ auf Seite 26). Ist der Kunststoffartikel chloroformbeständig, kann auch Chloroform zum Spülen benutzt werden. Zur Dekontamination von Elektrophoresetanks reinigen Sie mit Detergens (z. B. 0,5 % SDS), spülen Sie dann erst mit RNase-freiem Wasser und anschließend mit Ethanol (falls die Tanks ethanolbeständig sind). Lassen Sie sie an der Luft trocknen.

Einweg-Kunststoffartikel

Für das gesamte Verfahren wird die Verwendung von sterilen Einweg-Röhrchen aus Polypropylen empfohlen. Diese Röhrchen sind im Allgemeinen RNase-frei und benötigen keine Vorbehandlung zur Inaktivierung von RNAsen.

Glasgeräte

Glasgeräte müssen vor dem Einsatz vorbehandelt werden, um sicherzustellen, dass sie RNase-frei sind. Glasgeräte für RNA-Arbeiten sollten vor dem Einsatz mit einem Detergens gereinigt, gründlich gespült und im Ofen bei 240 °C mindestens 4 Stunden lang (oder ggf. über Nacht) gebacken werden. Viele RNAsen werden allein durch Autoklavieren nicht vollständig inaktiviert. Alternativ können Glasgeräte mit DEPC (Diethylpyrocarbonat) behandelt werden, wie im Abschnitt „Lösungen“ weiter unten beschrieben.

Lösungen

Lösungen (Wasser und andere Lösungen) sollten mit 0,1 % DEPC behandelt werden. DEPC ist ein wirksamer, aber nicht absoluter RNase-Inhibitor. Es wird oft in einer Konzentration von 0,1 % verwendet, um RNAsen auf Glas- oder Kunststoffartikeln zu inaktivieren und RNase-freie Lösungen und Wasser zu erzeugen. DEPC inaktiviert RNAsen durch kovalente Modifikation. Fügen Sie 0,1 ml DEPC zu 100 ml zu behandelnder Lösung hinzu und schütteln Sie die Lösung kräftig, um das DEPC zu lösen. Lassen Sie die Lösung 12 Stunden bei 37 °C inkubieren. Anschließend autoklavieren Sie die Lösung 15 min lang, um alle DEPC-Spuren zu entfernen. DEPC reagiert mit primären Aminen und kann daher nicht zur Behandlung von Tris-Puffern benutzt werden. DEPC ist in Gegenwart von Tris-Puffern sehr instabil und zerfällt schnell in Ethanol und CO₂. Bei der Zubereitung von Tris-Puffern,

behandeln Sie zuerst das Wasser mit DEPC. Erst danach lösen Sie Tris im Wasser, um den geeigneten Puffer herzustellen. DEPC in Spuren Mengen modifizieren Purinreste in RNA durch Carbethoxylierung. Die Effizienz einer Translation von carbethoxylierter RNA in zellfreien Systemen ist sehr niedrig. Die Fähigkeit zur Bildung von DNA/RNA- bzw. RNA/RNA-Hybriden ist jedoch nicht ernstlich beeinträchtigt, sofern kein hoher Anteil von Purinresten modifiziert wurde. Restliches DEPC muss immer aus Lösungen und Gefäßen entfernt werden. Dazu müssen die Lösungen und Gefäße 15 min lang autoklaviert oder auf 100 °C erhitzt werden.

Hinweis: RNeasy Puffer sind garantiert RNase-frei und benötigen keine DEPC-Behandlung. Sie enthalten daher auch keine DEPC-Kontaminationen.

Bestellinformationen

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

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Anwendungseinschränkungen finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit- oder Geräte-Handbuch. Diese stehen unter www.qiagen.com zur Verfügung oder können vom Technischen Service von QIAGEN oder dem für Sie zuständigen Außendienstmitarbeiter oder Distributor angefordert werden.

Hinweise

Hinweise

Hinweise

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarung für RNeasy DSP FFPE Kits

Mit der Nutzung dieses Produkts erkennen Käufer und Nutzer des Produkts die folgenden Bedingungen an:

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

Aktualisierte Nutzungs- und Lizenzbedingungen finden Sie im Internet unter www.qiagen.com.

Markennamen: QIAGEN®, Sample to Insight®, MinElute®, RNeasy® (QIAGEN Group); Ambion®, RNaseZap® (Thermo Fisher Scientific bzw. Tochtergesellschaften). Bei registrierten Namen, Markenzeichen usw., die in diesem Dokument genannt werden, ist nicht davon auszugehen, dass sie gesetzlich nicht geschützt sind, auch wenn sie nicht ausdrücklich als registrierter Namen bzw. registrierte Markenzeichen gekennzeichnet sind.
08/2017 HB-2416-001 1106945 © 2012–2017 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

Bestellungen www.qiagen.com/contact | Technische Beratung support.qiagen.com | Internetseite www.qiagen.com