

Tháng 12 năm 2020

# SỔ tay PAXgene<sup>®</sup> Blood RNA Kit

Phiên bản 2



50 (số danh mục 762174)

R4 **MAT** 1122120VN

**REF** 762174

**IVD**

**CE**



PreAnalytiX GmbH  
Feldbachstrasse, CH-8634 Hombrechtikon  
Được sản xuất bởi QIAGEN GmbH cho PreAnalytiX

 **PreAnalytiX**

A QIAGEN / BD Company

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

PAXgene Blood RNA Kit không có sẵn ở tất cả các quốc gia; vui lòng hỏi thông tin.

#### **Thỏa thuận Cấp phép Hạn chế**

Việc sử dụng sản phẩm này biểu thị thỏa thuận của bất kỳ người mua hoặc người dùng PAXgene Blood RNA Kit nào với các điều khoản sau:

1. PAXgene Blood RNA Kit chỉ có thể được sử dụng theo *Sổ tay PAXgene Blood RNA Kit* và chỉ sử dụng với các thành phần có trong Bộ dụng cụ. PreAnalytiX không cấp giấy phép theo bất kỳ tài sản trí tuệ nào của mình cho việc sử dụng hoặc kết hợp các thành phần kèm theo của Bộ dụng cụ này với bất kỳ thành phần nào không có trong Bộ dụng cụ này trừ khi được mô tả trong *Sổ tay PAXgene Blood RNA Kit* và các giao thức bổ sung có sẵn tại [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com).
2. Ngoài các giấy phép được nêu rõ ràng, PreAnalytiX không bảo đảm rằng Bộ dụng cụ này và/hoặc (các) công dụng của Bộ dụng cụ không vi phạm các quyền của bên thứ ba.
3. Bộ dụng cụ này và các thành phần của Bộ dụng cụ được cấp phép sử dụng một lần và không được tái sử dụng, tân trang hoặc bán lại.
4. PreAnalytiX đặc biệt từ chối bất kỳ giấy phép nào khác, được thể hiện rõ ràng hoặc ngụ ý ngoài những giấy phép được nêu rõ ràng.
5. Người mua và người dùng Bộ dụng cụ này đồng ý không thực hiện hoặc cho phép bất kỳ ai khác thực hiện các bước có thể dẫn đến hoặc tạo điều kiện cho bất kỳ hành vi nào bị cấm ở trên.
6. PreAnalytiX có thể thực thi các lệnh cấm của Thỏa thuận Cấp phép Hạn chế này tại bất kỳ Tòa án nào và sẽ thu hồi tất cả các chi phí điều tra và Tòa án, bao gồm phí luật sư, trong bất kỳ vụ kiện nào để thực thi Thỏa thuận Cấp phép Hạn chế này hoặc bất kỳ quyền sở hữu trí tuệ nào liên quan đến Bộ dụng cụ và/hoặc các thành phần của Bộ dụng cụ.

Để biết các điều khoản cấp phép được cập nhật, hãy truy cập [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com).

#### **Bán hàng Có điều kiện**

Sản phẩm hiện tại được cấp phép theo một số tuyên bố nhất định US-7,270,953 và US-7,682,790 cũng như EP-1820793 B1 và các tuyên bố tương đương với tuyên bố bằng sáng chế này để sử dụng sản phẩm này cho mục đích xử lý phức hợp axit nucleic được tạo thành trong quá trình thu thập mẫu trong PAXgene Blood RNA Tube.

HB-0101-007 BD-8945 1122120 © 2005–2020 PreAnalytiX GmbH, tất cả quyền được bảo lưu.

PreAnalytiX GmbH

Feldbachstrasse

CH – 8634 Hombrechtikon

Thụy Sĩ

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

#### **Nhà phân phối PreAnalytiX**

Các sản phẩm PreAnalytiX được QIAGEN hoặc BD sản xuất và phân phối cho PreAnalytiX. Không thể đặt hàng sản phẩm tại PreAnalytiX GmbH.


Vui lòng xem trang cuối để biết thông tin liên hệ của nhà phân phối PreAnalytiX tại địa phương của bạn.

# Thành phần

Thành phần Bộ dụng cụ .....	5
Biểu tượng .....	6
Điều kiện Bảo quản .....	7
Mục đích Sử dụng .....	8
Giới hạn Sử dụng Sản phẩm.....	8
Kiểm soát Chất lượng .....	9
Hỗ trợ Kỹ thuật.....	9
Thông tin An toàn .....	9
Giới thiệu.....	13
Nguyên lý và quy trình.....	13
Lấy và ổn định mẫu.....	14
Cô đặc và lọc RNA.....	19
Lọc RNA thủ công.....	19
Lọc RNA tự động .....	29
Thiết bị và Thuốc thử do Người dùng Cung cấp .....	38
Lưu ý Quan trọng .....	41
Sử dụng các dụng cụ QIAcube .....	41
Cài đặt giao thức trên dụng cụ QIAcube .....	44
Nạp các dụng cụ QIAcube .....	45
Giao thức: Lọc Thủ công RNA Toàn phần từ Máu Toàn phần ở Người được Thu vào PAXgene Blood RNA Tube (BRT) .....	55

Giao thức: Lọc Tự động RNA Toàn phần từ Máu Toàn phần ở Người được Thu vào PAXgene Blood RNA Tube (BRT) .....	62
Hướng dẫn Xử lý Sự cố .....	69
Phụ lục A: Nhận xét Chung về Xử lý RNA.....	71
Phụ lục B: Định lượng và Xác định Chất lượng RNA Toàn phần.....	72
Phụ lục C: Xử lý PAXgene Blood RNA Tube (BRT) .....	74
Thông tin Đặt hàng.....	75
Lịch sử Sửa đổi Sổ tay .....	77

# Thành phần Bộ dụng cụ

<b>PAXgene Blood RNA Kit</b>			<b>(50)</b>
<b>Số danh mục</b>			<b>762174</b>
<b>Số lượng chuẩn bị</b>			<b>50</b>
BR1	Resuspension Buffer (Chất đệm Tái huyền phù)	<b>RES   BUF</b>	20 ml
BR2	Binding Buffer (Chất đệm Liên kết)*	<b>BIND   BUF</b>	18 ml
BR3	Wash Buffer 1 (Chất đệm rửa 1)*	<b>WASH   BUF   1</b>	45 ml
BR4	Wash Buffer 2 (Chất đệm rửa 2) (cô đặc) <sup>†</sup>	<b>WASH   BUF   2   CONC</b>	11 ml
BR5	Elution Buffer (Chất đệm Rửa giải)	<b>ELU   BUF</b>	6 ml
RNFW	RNase-Free Water (Nước Không có RNase) (chai)	<b>PEL   WASH</b>	2 × 125 ml
PK	Proteinase K (nắp màu xanh lá)	<b>PROTK</b>	2 × 1,4 ml
PRC	PAXgene RNA Spin Columns (Cột quay PAXgene RNA) (màu đỏ)	<b>PAXgene   RNA   COL</b>	5 × 10
PT	Processing Tubes (Ống Xử Lý) (2 ml)	<b>PROC   TUBE</b>	6 × 50
Hemogard	Secondary BD Hemogard™ Closures (Vỏ BD Hemogard™ phụ)	<b>SEC   CLOS</b>	50
MCT	Microcentrifuge Tubes (Ống Ly tâm nhỏ) (1,5 ml)	<b>MIC   TUBE</b>	3 × 50, 1 × 10
RNFD	DNase I, RNase-free (DNase I, không có RNase) (đóng khô)	<b>DNA   REM</b>	1500 đơn vị Kunitz <sup>‡</sup>
RDD	DNA Digestion Buffer (Chất đệm Phân hủy DNA) (nắp màu trắng)	<b>DNA   DIG   BUF</b>	2 × 2 ml
DRB	DNase Resuspension Buffer (Chất đệm Tái huyền phù DNase) (ống, nắp màu tím hoa cà)	<b>DNase   RES   BUF</b>	2 ml
PSC	PAXgene Shredder Spin Columns (Cột quay PAXgene Shredder) (màu tím hoa cà)	<b>PAXgene   SHRED   COL</b>	5 × 10
Sổ tay	PAXgene Blood RNA Kit Handbook (Sổ tay PAXgene Blood RNA Kit) (Phiên bản 2)		1

\* Không tương thích với thuốc thử khử trùng chứa thuốc tẩy. Chứa muối guanidin. Xem trang 10 để biết thông tin an toàn.

<sup>†</sup> Chất đệm rửa 2 (BR4) được cung cấp dưới dạng cô đặc. Trước khi sử dụng lần đầu tiên, thêm 4 thể tích ethanol (96–100%, độ tinh khiết p.a.), như được chỉ định trên chai, để thu được dung dịch làm việc.

<sup>‡</sup> Đơn vị Kunitz là đơn vị thường được sử dụng để đo DNase I, được định nghĩa là lượng DNase I làm tăng A<sub>260</sub> 0,001 mỗi phút mỗi millilit ở 25°C, pH 5,0, với DNA được polyme hóa cao làm chất nền (Kunitz, M. (1950) J. Gen. Physiol. **33**, 349 và 363).

# Biểu tượng



Chứa thuốc thử đủ cho các xét nghiệm <N>



Tham khảo hướng dẫn sử dụng



Hạn sử dụng



Thiết bị y tế chẩn đoán trong ống nghiệm



Số danh mục



Số lô



Số tài liệu



Thành phần



Số



Phương pháp khử trùng bằng chiếu xạ



Đơn vị Kunitz



Thêm



Chứa



Đã hoàn nguyên



Deoxyribonuclease I



Ethanol

**GITC**

Guanidin isothiocyanate

**RNase-Free DNase Set**

Bộ DNase Không có RNase

**GTIN**

Mã số Thương phẩm Toàn cầu



Không sử dụng lại



Giới hạn nhiệt độ



Giới hạn trên của nhiệt độ



Nhà sản xuất



Lưu ý quan trọng

## Điều kiện Bảo quản

Cột quay PAXgene RNA (PRC), cột quay PAXgene Shredder (PSC), proteinase K (PK) và các chất đệm (BR1, BR2, BR3, BR4 và BR5) phải được bảo quản khô ở nhiệt độ ghi trên nhãn bộ dụng cụ.

Bộ DNase Không có RNase chứa DNase I (RNFD), chất đệm phân hủy DNA (RDD) và chất đệm tái huyền phù DNase (DRB) được vận chuyển ở nhiệt độ môi trường. Bảo quản tất cả các thành phần của Bộ DNase Không có RNase ngay khi nhận được ở nhiệt độ ghi trên nhãn. Khi được bảo quản đúng cách, bộ dụng cụ sẽ ổn định cho đến ngày hết hạn trên hộp bộ dụng cụ.

# Mục đích Sử dụng

PAXgene Blood RNA System chứa một ống lấy máu (PAXgene Blood RNA Tube, BRT) và bộ dụng cụ lọc axit nucleic (PAXgene Blood RNA Kit). Hệ thống này được dùng để lấy, bảo quản và vận chuyển máu và ổn định RNA nội bào trong một ống kín, sau đó tách và lọc RNA chủ từ máu toàn phần cho RT-PCR được sử dụng trong xét nghiệm chẩn đoán phân tử.

**Các đặc tính hiệu suất của PAXgene Blood RNA System chỉ được xác lập với các phiên mã gen FOS và IL1B. Người dùng có trách nhiệm xác lập các đặc tính hiệu suất của PAXgene Blood RNA System thích hợp cho các phiên mã đích khác.**

## Chỉ định sử dụng

PAXgene Blood RNA Kit dùng để lọc RNA nội bào từ máu toàn phần được thu trong PAXgene Blood RNA Tube (BRT). Khi bộ dụng cụ này được sử dụng cùng với PAXgene Blood RNA Tube (BRT), hệ thống sẽ cung cấp RNA nội bào đã lọc từ máu toàn phần cho RT-PCR được sử dụng trong xét nghiệm chẩn đoán phân tử.

## Giới hạn Sử dụng Sản phẩm

PAXgene Blood RNA Kit được dùng để lọc RNA nội bào từ máu toàn phần ở người ( $4,8 \times 10^6 - 1,1 \times 10^7$  bạch cầu/ml) cho các ứng dụng chẩn đoán trong ống nghiệm. Bộ dụng cụ này không dùng để lọc DNA hệ gen hoặc axit nucleic của vi-rút từ máu toàn phần ở người. Do số lượng phiên mã hạn chế được xác nhận cho các thông số kỹ thuật ổn định (phiên mã gen FOS và IL1B), các đặc tính hiệu suất chưa được xác lập cho tất cả các phiên mã. Người dùng nên xem lại dữ liệu của nhà sản xuất và dữ liệu của chính họ để xác định xem việc xác nhận có cần thiết cho các phiên mã khác hay không.



Sản phẩm này dự định sẽ được sử dụng bởi người dùng chuyên nghiệp, ví dụ như kỹ thuật viên và bác sĩ được đào tạo về các quy trình chẩn đoán trong ống nghiệm.

Xem *Sổ tay PAXgene Blood RNA Tube* để biết thông tin về việc sử dụng PAXgene Blood RNA Tube (BRT).

## Kiểm soát Chất lượng

Theo Hệ thống Quản lý Chất lượng được chứng nhận ISO của QIAGEN, mỗi lô PAXgene Blood RNA Kit được thử nghiệm theo các thông số kỹ thuật đã được xác định trước để bảo đảm chất lượng sản phẩm đồng nhất.

## Hỗ trợ Kỹ thuật

Tại QIAGEN, chúng tôi tự hào về chất lượng và sự sẵn có của hỗ trợ kỹ thuật. Các Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật của chúng tôi có đội ngũ các nhà khoa học giàu kinh nghiệm với chuyên môn lý thuyết và thực tiễn sâu rộng về sinh học phân tử và sử dụng các sản phẩm PreAnalytiX. Nếu bạn có bất kỳ câu hỏi nào liên quan đến PAXgene Blood RNA Kit, vui lòng liên hệ với chúng tôi.

Để được hỗ trợ kỹ thuật và biết thêm thông tin, vui lòng gọi bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN.

## Thông tin An toàn

Liên minh Châu Âu (EU) - Người dùng nên báo cáo bất kỳ sự cố nghiêm trọng nào liên quan đến thiết bị cho nhà sản xuất và Cơ quan Có thẩm quyền Quốc gia. Bên ngoài Liên minh Châu Âu (EU) - Liên hệ với đại diện QIAGEN tại địa phương của bạn nếu có bất kỳ sự cố hoặc thắc mắc nào liên quan đến thiết bị.

Khi làm việc với hóa chất, luôn mang áo choàng phòng thí nghiệm, găng tay dùng một lần và kính bảo hộ phù hợp.

Để tránh nguy cơ lây nhiễm (ví dụ: do vi-rút HIV hoặc viêm gan B) hoặc bị thương khi làm việc với các vật liệu sinh học và hóa học, luôn mặc áo choàng phòng thí nghiệm, găng tay dùng một lần và kính bảo hộ phù hợp. Để biết thêm thông tin, vui lòng tham khảo các bảng chỉ dẫn an toàn (safety data sheet, SDS) phù hợp. Các bảng này có sẵn trực tuyến ở định dạng PDF thuận tiện và nhỏ gọn tại [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com) nơi bạn có thể tìm, xem và in SDS cho bộ dụng cụ này.

**THẬN TRỌNG**



KHÔNG thêm thuốc tẩy hoặc dung dịch axit trực tiếp vào chất thải chuẩn bị mẫu.

Chất đệm liên kết (BR2) và chất đệm rửa 1 (BR3) chứa guanidine thiocyanate, có thể tạo thành các hợp chất phản ứng cao khi kết hợp với thuốc tẩy. Nếu Chất đệm liên kết (BR2) hoặc chất đệm rửa 1 (BR3) bị đổ, hãy làm sạch bằng nước và chất tẩy rửa phòng thí nghiệm thích hợp. Nếu chất lỏng chứa các tác nhân có khả năng lây bệnh bị đổ, trước tiên hãy làm sạch khu vực bị ảnh hưởng bằng nước và chất tẩy rửa phòng thí nghiệm, sau đó bằng 1% (v/v) natri hypoclorit (thuốc tẩy).

Hỗn hợp dung dịch ổn định RNA và máu từ PAXgene Blood RNA Tube (BRT) có thể được khử trùng bằng cách sử dụng 1 thể tích dung dịch thuốc tẩy thương mại (5% natri hypoclorit) trên 9 thể tích hỗn hợp dung dịch ổn định RNA và máu.

Chất thải chuẩn bị mẫu, chẳng hạn như chất nổi trên bề mặt từ các bước ly tâm trong quy trình lọc RNA, được coi là có khả năng lây bệnh. Trước khi thải bỏ, chất thải phải được hấp hoặc thiêu để tiêu hủy mọi vật liệu lây bệnh. Việc thải bỏ phải được thực hiện theo quy định chính thức.

Các tuyên bố phòng ngừa và nguy hiểm sau đây áp dụng cho các thành phần của PAXgene Blood RNA Kit. Xem *Sổ tay PAXgene Blood RNA Tube* để biết thông tin an toàn về PAXgene Blood RNA Tube (BRT).

### Chất đệm BR2



Chứa: guanidin thiocyanate. Nguy hiểm! Có hại nếu nuốt phải. Có thể có hại khi tiếp xúc với da hoặc nếu hít phải. Gây tổn thương mắt nghiêm trọng. Có hại cho đời sống thủy sinh với ảnh hưởng lâu dài. Tiếp xúc với axit sẽ giải phóng khí rất độc. Đeo găng tay bảo hộ/ quần áo bảo hộ/ đồ bảo vệ mắt/ bảo vệ mặt. **NẾU TIẾP XÚC VỚI MẮT:** Rửa cẩn thận với nước trong vài phút. Tháo kính áp tròng, nếu có và dễ dàng thực hiện. Tiếp tục rửa. Gọi ngay cho **TRUNG TÂM CHỐNG ĐỘC** hoặc bác sĩ y khoa/ bác sĩ.

### Chất đệm BR3



Chứa: ethanol; guanidin thiocyanate. Nguy hiểm! Chất lỏng và hơi dễ cháy. Gây tổn thương mắt nghiêm trọng. Tiếp xúc với axit sẽ giải phóng khí rất độc. Tránh xa sức nóng/tia lửa/ngọn lửa hở/bề mặt nóng. Không hút thuốc. Đeo găng tay bảo hộ/ quần áo bảo hộ/ đồ bảo vệ mắt/ bảo vệ mặt. **NẾU TIẾP XÚC VỚI MẮT:** Rửa cẩn thận với nước trong vài phút. Tháo kính áp tròng, nếu có và dễ dàng thực hiện. Tiếp tục rửa. Gọi ngay cho **TRUNG TÂM CHỐNG ĐỘC** hoặc bác sĩ y khoa/ bác sĩ.

### DNase I



Chú ý: DNase. Nguy hiểm! Có thể gây ra phản ứng dị ứng da. Có thể gây ra các triệu chứng dị ứng hoặc hen suyễn hoặc khó thở nếu hít phải. Tránh hít bụi/ khói/ khí/ sương/ hơi/ bụi nước. Đeo găng tay bảo hộ/ quần áo bảo hộ/ đồ bảo vệ mắt/ bảo vệ mặt. Đeo thiết bị bảo vệ đường hô hấp. **NẾU** tiếp xúc hoặc lo ngại: Gọi cho **TRUNG TÂM CHỐNG ĐỘC** hoặc bác sĩ y khoa/ bác sĩ. Di chuyển nạn nhân đến nơi thoáng khí và cho nghỉ ngơi ở tư thế dễ thở.

### Proteinase K



Chú ý: proteinase K. Nguy hiểm! Gây kích ứng da nhẹ. Có thể gây ra các triệu chứng dị ứng hoặc hen suyễn hoặc khó thở nếu hít phải. Tránh hít bụi/ khói/ khí/ sương/ hơi/ bụi nước. Đeo găng tay bảo hộ/ quần áo bảo hộ/ đồ bảo vệ mắt/ bảo vệ mặt. Đeo thiết bị bảo vệ đường hô hấp. **NẾU** tiếp xúc hoặc lo ngại: Gọi cho **TRUNG TÂM CHỐNG ĐỘC** hoặc bác sĩ y khoa/ bác sĩ. Di chuyển nạn nhân đến nơi thoáng khí và cho nghỉ ngơi ở tư thế dễ thở.

# Giới thiệu

Lấy máu toàn phần là bước đầu tiên trong nhiều xét nghiệm phân tử được sử dụng để nghiên cứu RNA tế bào. Tuy nhiên, một vấn đề lớn trong các thí nghiệm như vậy là tính không ổn định của dữ kiện RNA tế bào trong ống nghiệm. Các nghiên cứu tại PreAnalytiX đã chỉ ra rằng số lượng bản sao của các loại mRNA riêng lẻ trong máu toàn phần có thể thay đổi hơn 1000 lần trong quá trình bảo quản hoặc vận chuyển ở nhiệt độ phòng.\* Điều này là do biến chất RNA nhanh và do biểu hiện gây ra của một số gen nhất định sau khi lấy máu. Những thay đổi như vậy trong dữ kiện biểu hiện RNA khiến không thể tiến hành các nghiên cứu tin cậy về biểu hiện gen. Do đó, cần có một phương pháp bảo tồn dữ kiện biểu hiện RNA trong và sau thủ thuật mở tĩnh mạch để phân tích chính xác biểu hiện gen trong máu toàn phần ở người.

## Nguyên lý và quy trình

PreAnalytiX đã phát triển một hệ thống cho phép lấy, ổn định, bảo quản và vận chuyển các mẫu máu toàn phần ở người, cùng với một giao thức lọc RNA nội bào nhanh chóng và hiệu quả. Hệ thống yêu cầu sử dụng PAXgene Blood RNA Tube (BRT; Bảng sáng chế Hoa Kỳ 6,602,718 và 6,617,170) để lấy máu và ổn định RNA, sau đó lọc RNA thủ công hoặc tự động bằng PAXgene Blood RNA Kit. Cả giao thức thủ công và tự động đều cung cấp hiệu suất tương đương về cơ bản liên quan đến chất lượng và năng suất RNA. Dữ liệu hiệu suất cho giao thức thủ công (trang 22–29) và giao thức tự động (trang 31–35) được bao gồm trong sổ tay này.



QIAGEN QIAcube Connect MDx không có sẵn ở tất cả các quốc gia. Để biết thêm chi tiết vui lòng liên hệ với bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN .

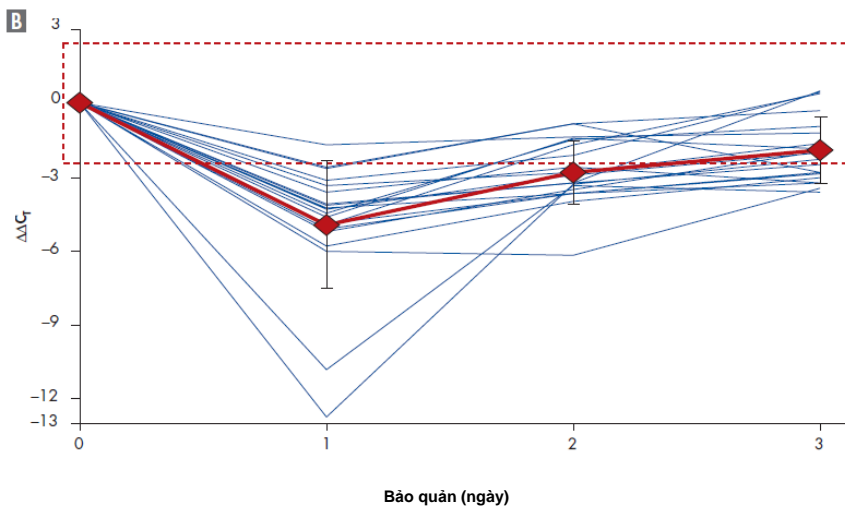
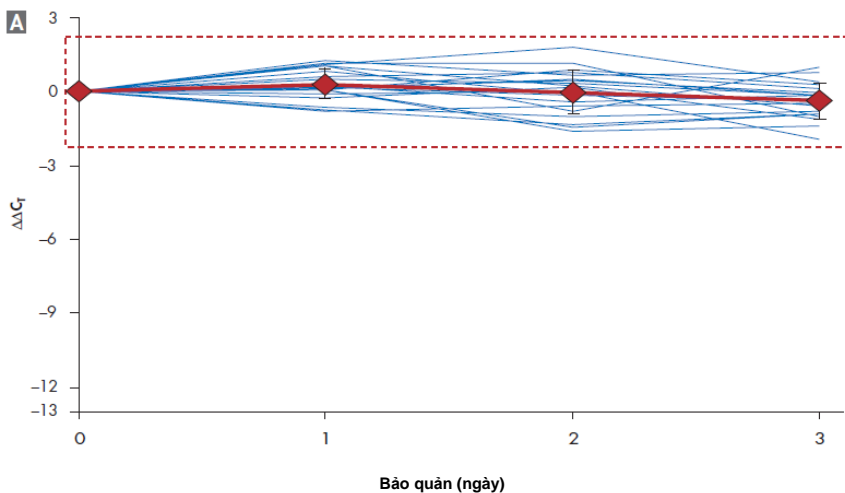
\* Rainen, L. et al. (2002) Stabilization of mRNA expression in whole blood samples. Clin. Chem. **48**, 1883.

## Lấy và ổn định mẫu

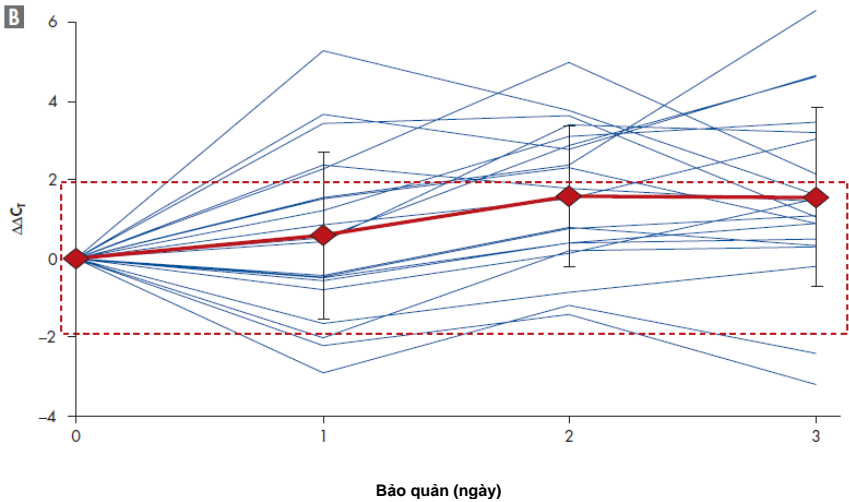
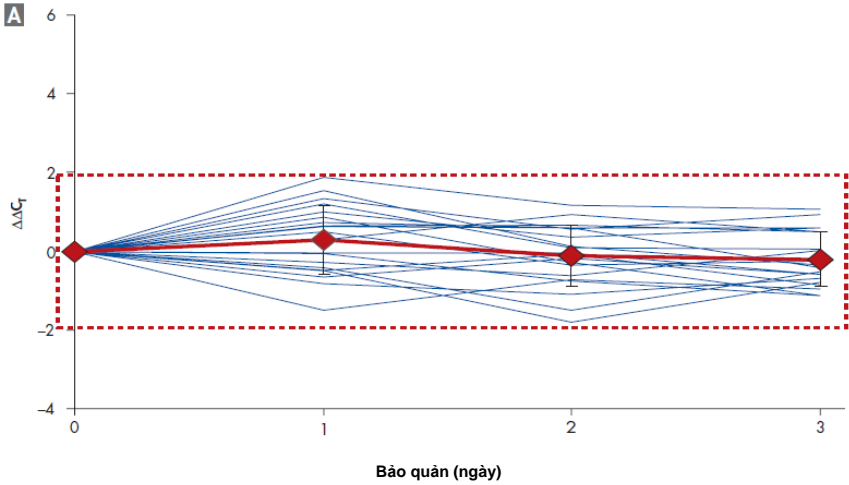
PAXgene Blood RNA Tube (BRT) chứa thành phần thuốc thử độc quyền dựa trên công nghệ ổn định RNA đã được cấp bằng sáng chế. Thành phần thuốc thử này bảo vệ các phân tử RNA khỏi bị biến chất bởi các RNase và giảm thiểu những thay đổi bên ngoài cơ thể sống trong biểu hiện gen. PAXgene Blood RNA Tube (BRT) được dùng để lấy máu toàn phần ở người và ổn định RNA tế bào trong tối đa 3 ngày ở nhiệt độ 18–25°C (Hình 1 và 2, trang 15 và 16) hoặc tối đa 5 ngày ở nhiệt độ 2–8°C (Hình 3 và 4, trang 17 và 18). Dữ liệu hiện có cho thấy sự ổn định của RNA tế bào trong ít nhất 11 năm ở nhiệt độ –20°C hoặc –70°C\*. Để biết thêm thông tin từ các nghiên cứu đang tiến hành đánh giá độ ổn định trong khoảng thời gian dài hơn, vui lòng liên hệ với bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN.

Thời gian ổn định RNA thực tế có thể khác nhau tùy thuộc vào loại RNA tế bào và ứng dụng cùng hướng được sử dụng. Do số lượng phiên mã hạn chế được xác nhận cho các thông số kỹ thuật ổn định (phiên mã gen FOS và IL1B), các đặc tính hiệu suất chưa được xác lập cho tất cả các phiên mã. Người dùng nên xem lại dữ liệu của nhà sản xuất và dữ liệu của chính họ để xác định xem việc xác nhận có cần thiết cho các phiên mã khác hay không.

\* Một nghiên cứu dài hạn về bảo quản máu trong PAXgene Blood RNA Tube đang được tiến hành.

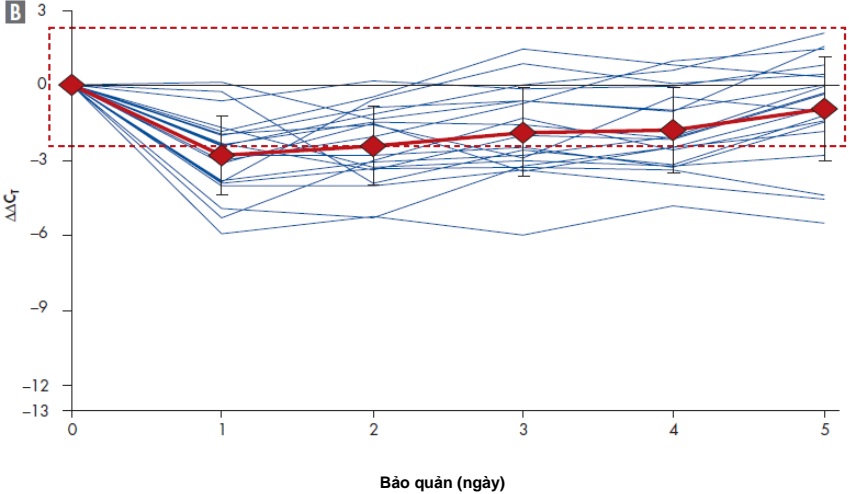
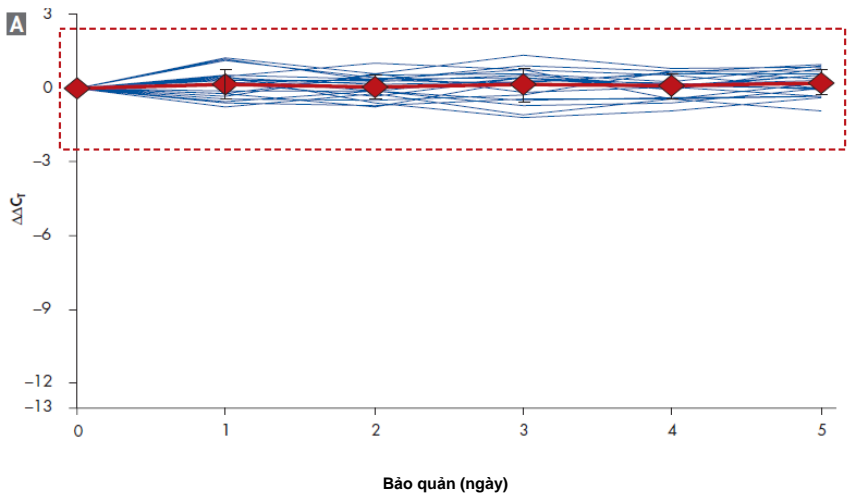


**Hình 1. Độ ổn định RNA trong mẫu máu ở nhiệt độ 18–25°C: FOS.** Máu được lấy từ 10 người hiến, với các mẫu trùng nhau và được bảo quản ở nhiệt độ 18–25°C trong số ngày được chỉ định, sau đó lọc RNA toàn phần. **[A]** Máu được lấy và bảo quản trong PAXgene Blood RNA Tube (BRT) và RNA toàn phần được lọc bằng cách sử dụng PAXgene Blood RNA Kit. **[B]** Máu được lấy và bảo quản trong các ống lấy máu tiêu chuẩn với EDTA làm chất chống đông và RNA toàn phần được lọc bằng phương pháp tách chiết hữu cơ tiêu chuẩn có loại bỏ RNA dựa trên màng silica. Mức phiên mã tương đối của FOS được xác định bằng RT-PCR đôi, thời gian thực, sử dụng rRNA 18S làm tiêu chuẩn nội bộ. Giá trị cho tất cả các mẫu được vẽ sơ đồ với giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của tất cả các mẫu được hiển thị. Các đường đứt nét biểu thị tổng độ chính xác  $\pm 3x$  của xét nghiệm (2.34  $C_T$ ).

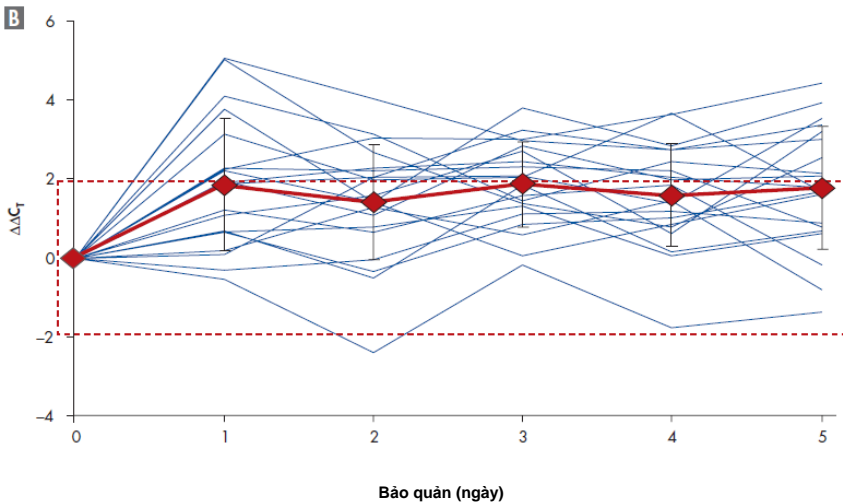
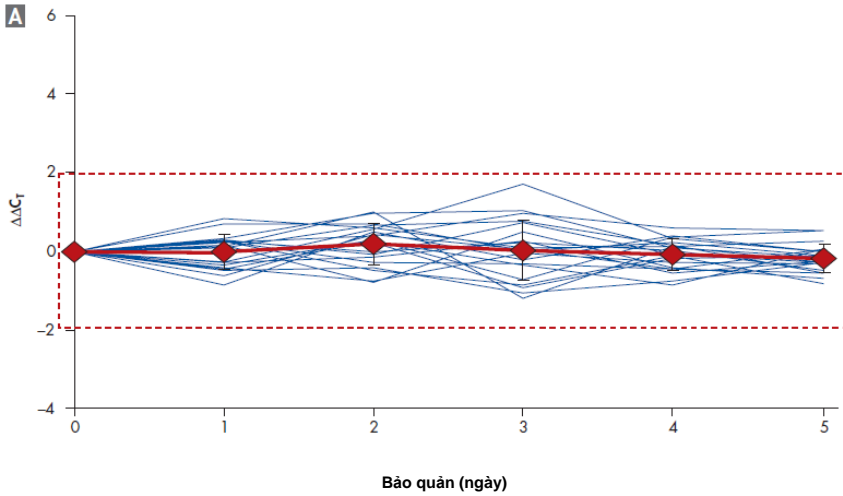


**Hình 2. Độ ổn định RNA trong mẫu máu ở nhiệt độ 18–25°C: IL1B.** Máu được lấy và RNA toàn phần được lọc, sau khi bảo quản ở nhiệt độ 18–25°C, như được mô tả trong Hình 1. Mức phiên mã tương đối của IL1B được xác định bằng RT-PCR đối, thời gian thực, sử dụng rRNA 18S làm tiêu chuẩn nội bộ. Giá trị cho tất cả các mẫu được vẽ sơ đồ với giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của tất cả các mẫu được hiển thị. Các đường đứt nét biểu thị tổng độ chính xác  $\pm 3x$  của xét nghiệm (1,93  $C_T$ ).





**Hình 3. Độ ổn định RNA trong mẫu máu ở nhiệt độ 2-8°C: FOS.** Máu được lấy từ 10 người hiến, với các mẫu trùng nhau và được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C trong số ngày được chỉ định, sau đó lọc RNA toàn phần. **[A]** Máu được lấy và bảo quản trong PAXgene Blood RNA Tube (BRT) và RNA toàn phần được lọc bằng cách sử dụng PAXgene Blood RNA Kit. **[B]** Máu được lấy và bảo quản trong các ống lấy máu tiêu chuẩn với EDTA làm chất chống đông và RNA toàn phần được lọc bằng phương pháp tách chiết hữu cơ tiêu chuẩn có loại bỏ RNA dựa trên màng silica. Mức phiên mã tương đối của FOS được xác định bằng RT-PCR đôi, thời gian thực, sử dụng rRNA 18S làm tiêu chuẩn nội bộ. Giá trị cho tất cả các mẫu được vẽ sơ đồ với giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của tất cả các mẫu được hiển thị. Các đường đứt nét biểu thị tổng độ chính xác  $\pm 3x$  của xét nghiệm (2.34  $C_t$ ).



**Hình 4. Độ ổn định RNA trong mẫu máu ở nhiệt độ 2-8°C: IL1B.** Máu được lấy và RNA toàn phần được lọc, sau khi bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C, như được mô tả trong Hình 3. Mức phiên mã tương đối của IL1B được xác định bằng RT-PCR đôi, thời gian thực, sử dụng rRNA 18S làm tiêu chuẩn nội bộ. Giá trị cho tất cả các mẫu được vẽ sơ đồ với giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của tất cả các mẫu được hiển thị. Các đường đứt nét biểu thị tổng độ chính xác  $\pm 3x$  của xét nghiệm ( $1,93 C_T$ ).

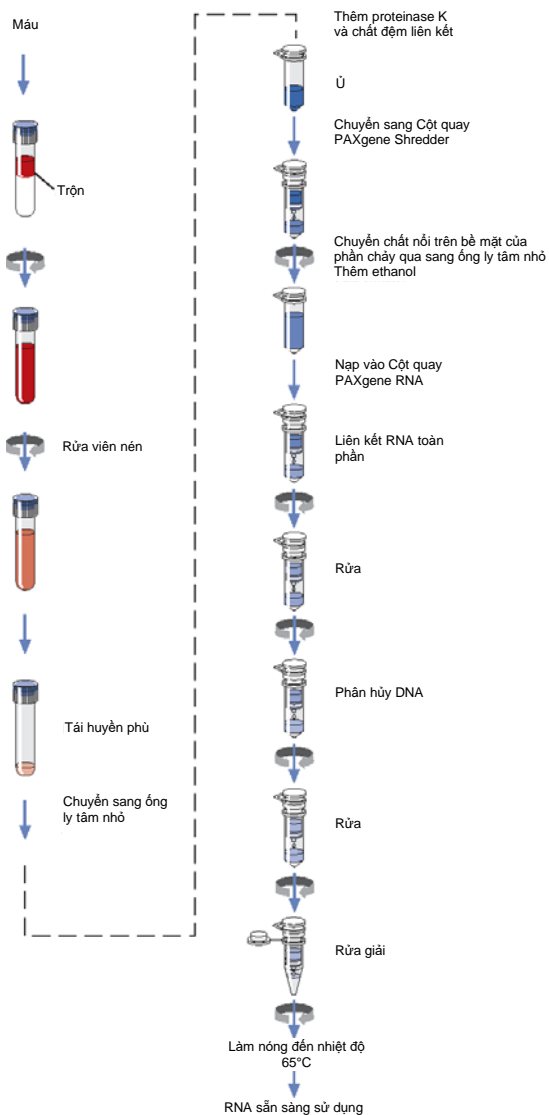
## Cô đặc và lọc RNA

PAXgene Blood RNA Kit dùng để lọc RNA toàn phần từ 2,5 ml máu toàn phần ở người được thu trong PAXgene Blood RNA Tube (BRT). Quy trình này đơn giản và có thể thực hiện bằng các bước thủ công hoặc tự động (xem Hình 5 và 10, trang 20 và 30). Trong cả hai giao thức, quy trình lọc bắt đầu bằng bước ly tâm để tạo viên nén axit nucleic trong PAXgene Blood RNA Tube (BRT). Viên nén được rửa và tái huyền phù, sau đó lọc RNA thủ công hoặc tự động. Về nguyên tắc, cả hai giao thức đều tuân theo các bước giao thức giống nhau với cùng các thành phần bộ dụng cụ.

## Lọc RNA thủ công

Cụ thể, viên nén tái huyền phù được ủ trong chất đệm tối ưu hóa cùng với proteinase K (PK) để phân hủy protein. Quá trình ly tâm bổ sung qua cột quay PAXgene Shredder (PSC) được thực hiện để đồng nhất chất phân giải tế bào và loại bỏ các mảnh vụn tế bào dư thừa; đồng thời, chất nổi trên bề mặt của phần chảy qua được chuyển sang một ống ly tâm nhỏ mới. Ethanol được thêm vào để điều chỉnh các điều kiện liên kết và chất phân giải được đưa vào cột quay PAXgene RNA (PRC). Trong quá trình ly tâm nhanh chóng, RNA được liên kết chọn lọc với màng silica PAXgene khi các chất nhiễm bẩn đi qua. Các chất nhiễm bẩn còn lại được loại bỏ trong một số bước rửa hiệu quả. Giữa bước rửa thứ nhất và thứ hai, màng được xử lý bằng DNase I (RNFD) để loại bỏ lượng nhỏ DNA liên kết. Sau các bước rửa, RNA được rửa giải trong chất đệm rửa giải (BR5) và biến chất do nhiệt.

RNA toàn phần được tách bằng PAXgene Blood RNA System là tinh khiết. Sử dụng giao thức thủ công, các giá trị  $A_{260}/A_{280}$  nằm trong khoảng từ 1,8 đến 2,2 và  $\leq 1\%$  (w/w) DNA hệ gen có trong  $\geq 95\%$  tất cả các mẫu, được đo bằng PCR định lượng, thời gian thực của trình tự gen beta-actin. Ít nhất 95% mẫu không bị ức chế trong RT-PCR, khi sử dụng đến 30% chất rửa giải.

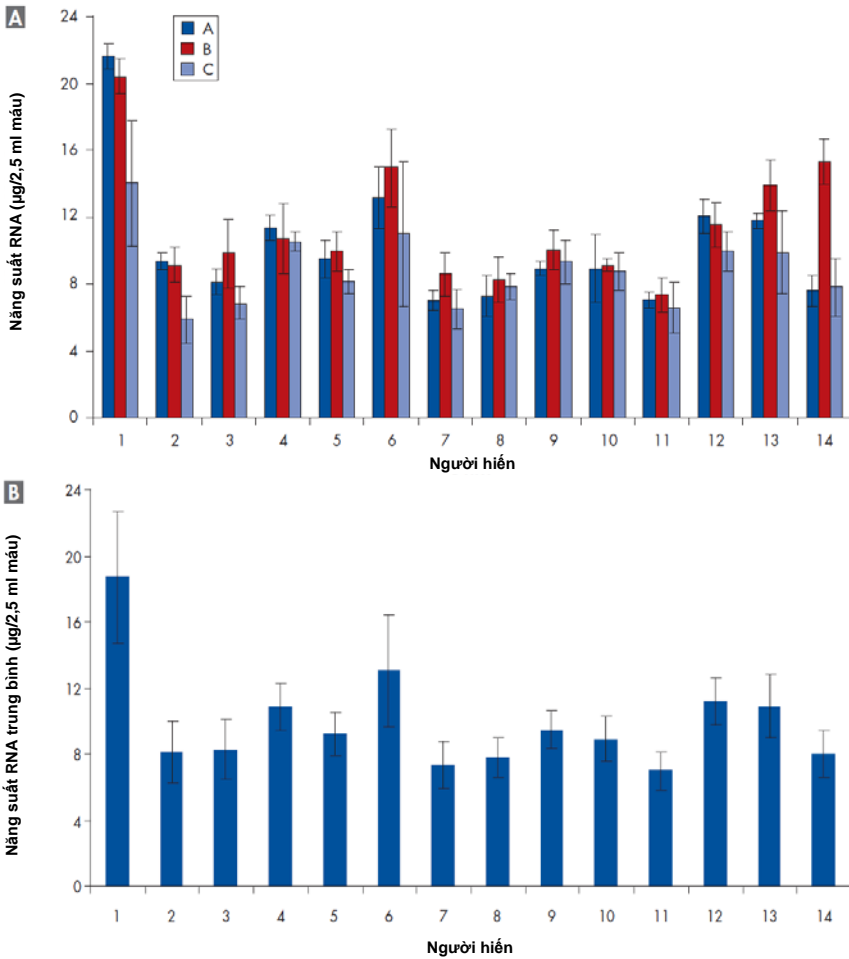


**Hình 5. Quy trình PAXgene Blood RNA thủ công.**

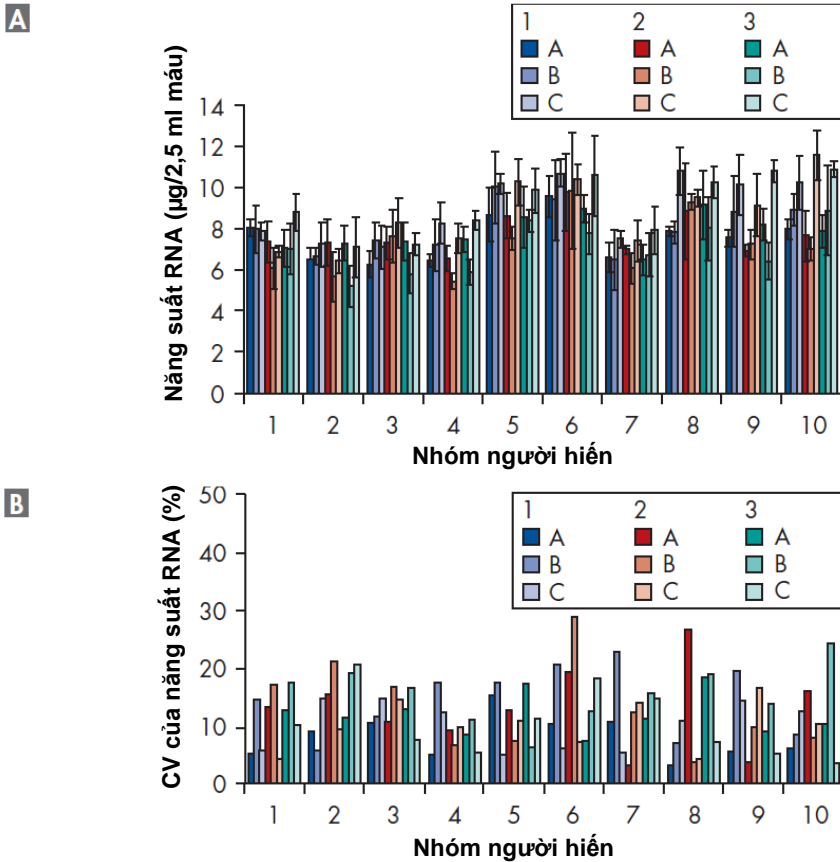
Sử dụng giao thức thủ công, thời gian chuẩn bị mẫu trung bình (dựa trên dữ liệu từ 12 lần chạy chuẩn bị mẫu) là khoảng 90 phút\* với chỉ 40 phút thực hiện. Năng suất RNA từ 2,5 ml máu toàn phần ở người khỏe mạnh là  $\geq 3 \mu\text{g}$  cho  $\geq 95\%$  mẫu được xử lý. Vì năng suất phụ thuộc nhiều vào người hiến, năng suất cụ thể có thể khác nhau. Đối với từng người hiến, PAXgene Blood RNA System cung cấp năng suất có khả năng tái lập và lặp lại cao (Hình 6 và 7, trang 22 và 23) và RT-PCR có khả năng tái lập và lặp lại (Hình 8 và 9, trang 27 và 28), khiến hệ thống hoàn toàn phù hợp cho các xét nghiệm chẩn đoán lâm sàng.

Hình 6 (trang 22) cho biết khả năng lặp lại và tái lập tổng thể của PAXgene Blood RNA System. Các nghiên cứu bổ sung đã được thực hiện để chỉ ra ảnh hưởng của các lô PAXgene Blood RNA Kit khác nhau và những người vận hành khác nhau đối với khả năng tái lập năng suất RNA và hiệu suất RT-PCR thời gian thực. Vì sử dụng các mẫu máu tổng hợp thay vì các PAXgene Blood RNA Tube (BRT) riêng lẻ cho các nghiên cứu này, kết quả không phản ánh khả năng lặp lại của hệ thống, bao gồm sự dao động giữa các lần lấy máu riêng lẻ, mà chỉ phản ánh khả năng lặp lại của việc chuẩn bị mẫu (xem Hình 7, trang 23).

\* Tổng thời gian chạy giao thức, bao gồm xử lý trước PAXgene Blood RNA Tube (ly tâm, rửa viên nén và tái huyền phù viên nén).



**Hình 6. Lọc RNA có khả năng tái lập và lặp lại.** Bốn mẫu máu trùng lặp từ 14 người hiến được xử lý thủ công bởi mỗi trong 3 kỹ thuật viên (A, B, C). Ba bộ thiết bị đã được sử dụng và tất cả các mẫu do một kỹ thuật viên chuẩn bị đều được xử lý bằng cùng một thiết bị. **[A]** Giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của năng suất RNA trên mỗi mẫu trùng lặp từ cùng một người hiến và các kỹ thuật viên khác nhau được hiển thị. **[B]** Mười hai mẫu máu trùng lặp từ mỗi trong số 14 người hiến được xử lý bởi 3 kỹ thuật viên khác nhau. Giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của năng suất RNA trên các mẫu từ cùng một người hiến và tất cả các kỹ thuật viên khác nhau được trình bày. Đối với tất cả các mẫu RNA, tỷ lệ  $A_{260}/A_{280}$  nằm trong khoảng từ 1,8 đến 2,2.



**Hình 7. Khả năng lặp lại và tái lập của năng suất RNA đối với những người vận hành khác nhau và các lô PAXgene Blood RNA Kit sử dụng các mẫu máu tổng hợp.** Các mẫu máu từ 30 người hiến khác nhau được thu trong PAXgene Blood RNA Tube (BRT; 12 ống cho mỗi người hiến, tổng cộng 360 ống). Thành phần của các ống từ 3 người hiến được nhóm lại và sau đó được phân chia lại thành 36 mẫu. 36 mẫu này cho mỗi nhóm 3 người hiến được xử lý thủ công bởi 3 người vận hành khác nhau. Mỗi người vận hành sử dụng 3 lô PAXgene Blood RNA Kit khác nhau để tách chiết và xử lý bốn mẫu trùng lặp từ mỗi trong số 10 nhóm người hiến. **[A]** Năng suất RNA và độ lệch chuẩn (thanh lỗi) trên mỗi bốn mẫu trùng lặp từ cùng một nhóm người hiến cho người vận hành khác nhau và lô bộ dụng cụ khác nhau được trình bày. **[B]** CV của năng suất RNA trên mỗi nhóm người hiến cho tất cả các kết hợp người vận hành–lô (A, B, C; 1, 2, 3) được tính toán từ năng suất trung bình và độ lệch chuẩn của năng suất được thể hiện trong Hình 7A.

**Bảng 1A. Khả năng tái lập trong mỗi lô và trong mỗi người dùng cho các nhóm người hiến được chọn (1, 6, 9, 10)**

Kết hợp dữ liệu	Nhóm người hiến 1 5,1 x 10 <sup>6</sup> tế bào/ml			Nhóm người hiến 6 6,5 x 10 <sup>6</sup> tế bào/ml		
	Năng suất trung bình (µg)	SD (µg)	CV (%)	Năng suất trung bình (µg)	SD (µg)	CV (%)
Lô 1, người dùng A	8,03	0,42	5	9,55	0,99	10
Lô 1, người dùng B	7,98	1,17	15	9,38	1,94	21
Lô 1, người dùng C	7,87	0,45	6	10,71	0,65	6
Lô 2, người dùng A	7,32	0,98	13	9,78	1,89	19
Lô 2, người dùng B	6,09	1,04	17	9,82	2,83	29
Lô 2, người dùng C	6,87	0,31	4	10,37	0,74	7
Lô 3, người dùng A	7,04	0,90	13	8,96	0,68	8
Lô 3, người dùng B	6,98	1,22	17	7,73	0,97	13
Lô 3, người dùng C	8,78	0,89	10	10,59	1,94	18
Kết hợp dữ liệu	Nhóm người hiến 9 8,4 x 10 <sup>6</sup> tế bào/ml			Nhóm người hiến 10 10,2 x 10 <sup>6</sup> tế bào/ml		
	Năng suất trung bình (µg)	SD (µg)	CV (%)	Năng suất trung bình (µg)	SD (µg)	CV (%)
Lô 1, người dùng A	7,52	0,41	6	7,96	0,49	6
Lô 1, người dùng B	8,82	1,72	19	8,90	0,76	9
Lô 1, người dùng C	10,14	1,46	14	10,22	1,29	13
Lô 2, người dùng A	6,92	0,27	4	7,63	1,23	16
Lô 2, người dùng B	7,20	0,71	10	7,00	0,56	8
Lô 2, người dùng C	9,14	1,52	17	11,56	1,21	10
Lô 3, người dùng A	8,18	0,76	9	7,85	0,82	10
Lô 3, người dùng B	6,41	0,88	14	8,88	2,17	24
Lô 3, người dùng C	10,78	0,56	5	10,88	0,37	3



**Bảng 1B. Khả năng tái lập trong mỗi người dùng và giữa tất cả các lô đối với các nhóm người hiến đã chọn (1, 6, 9, 10)**

Kết hợp dữ liệu	Nhóm người hiến 1 5,1 x 10 <sup>6</sup> tế bào/ml			Nhóm người hiến 6 6,5 x 10 <sup>6</sup> tế bào/ml		
	Năng suất trung bình (µg)	SD (µg)	CV (%)	Năng suất trung bình (µg)	SD (µg)	CV (%)
Người dùng A, tất cả các lô	7,46	0,85	11	9,43	1,22	13
Người dùng B, tất cả các lô	7,02	1,31	19	8,98	2,09	23
Người dùng C, tất cả các lô	7,84	0,98	13	10,56	1,15	11
Kết hợp dữ liệu	Nhóm người hiến 9 8,4 x 10 <sup>6</sup> tế bào/ml			Nhóm người hiến 10 10,2 x 10 <sup>6</sup> tế bào/ml		
	Năng suất trung bình (µg)	SD (µg)	CV (%)	Năng suất trung bình (µg)	SD (µg)	CV (%)
Người dùng A, tất cả các lô	7,54	0,72	10	7,81	0,82	11
Người dùng B, tất cả các lô	7,48	1,50	20	8,26	1,54	19
Người dùng C, tất cả các lô	10,02	1,34	13	10,89	1,10	10

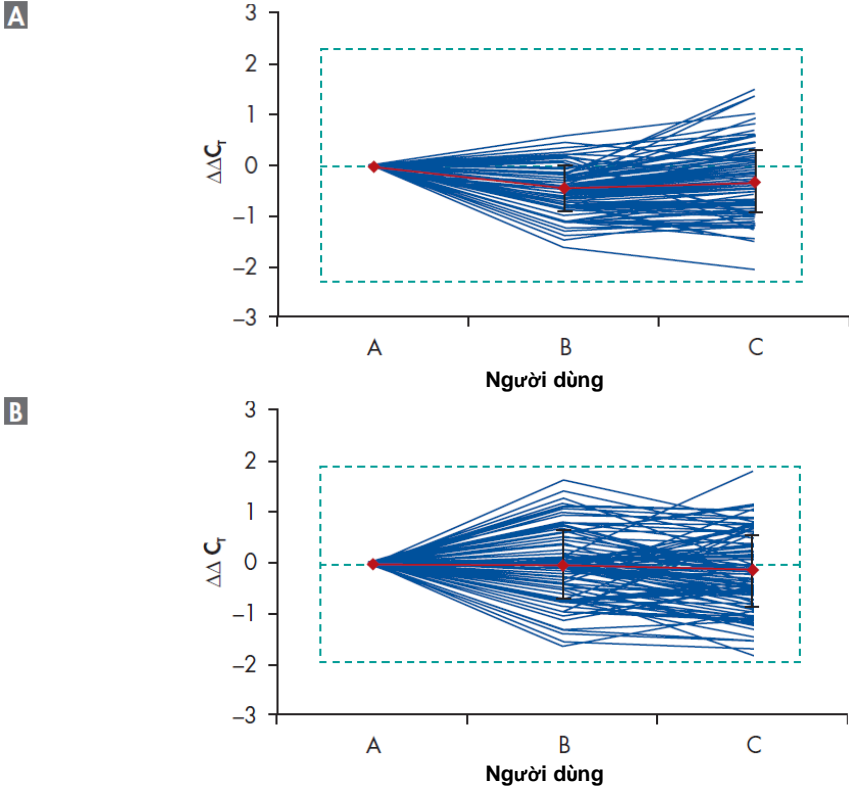
**Bảng 1C. Khả năng tái lập trong mỗi lô và giữa tất cả các người dùng đối với các nhóm người hiến đã chọn (1, 6, 9, 10)**

Kết hợp dữ liệu	Nhóm người hiến 1 5,1 x 10 <sup>6</sup> tế bào/ml			Nhóm người hiến 6 6,5 x 10 <sup>6</sup> tế bào/ml		
	Năng suất trung bình (µg)	SD (µg)	CV (%)	Năng suất trung bình (µg)	SD (µg)	CV (%)
Lô 1, tất cả người dùng	7,96	0,69	9	9,88	1,34	14
Lô 2, tất cả người dùng	6,76	0,93	14	9,99	1,84	18
Lô 3, tất cả người dùng	7,60	1,27	17	9,09	1,71	19
Kết hợp dữ liệu	Nhóm người hiến 9 8,4 x 10 <sup>6</sup> tế bào/ml			Nhóm người hiến 10 10,2 x 10 <sup>6</sup> tế bào/ml		
	Năng suất trung bình (µg)	SD (µg)	CV (%)	Năng suất trung bình (µg)	SD (µg)	CV (%)
Lô 1, tất cả người dùng	8,83	1,63	19	9,02	1,27	14
Lô 2, tất cả người dùng	7,75	1,36	18	8,73	2,31	26
Lô 3, tất cả người dùng	8,46	1,99	24	9,20	1,80	20

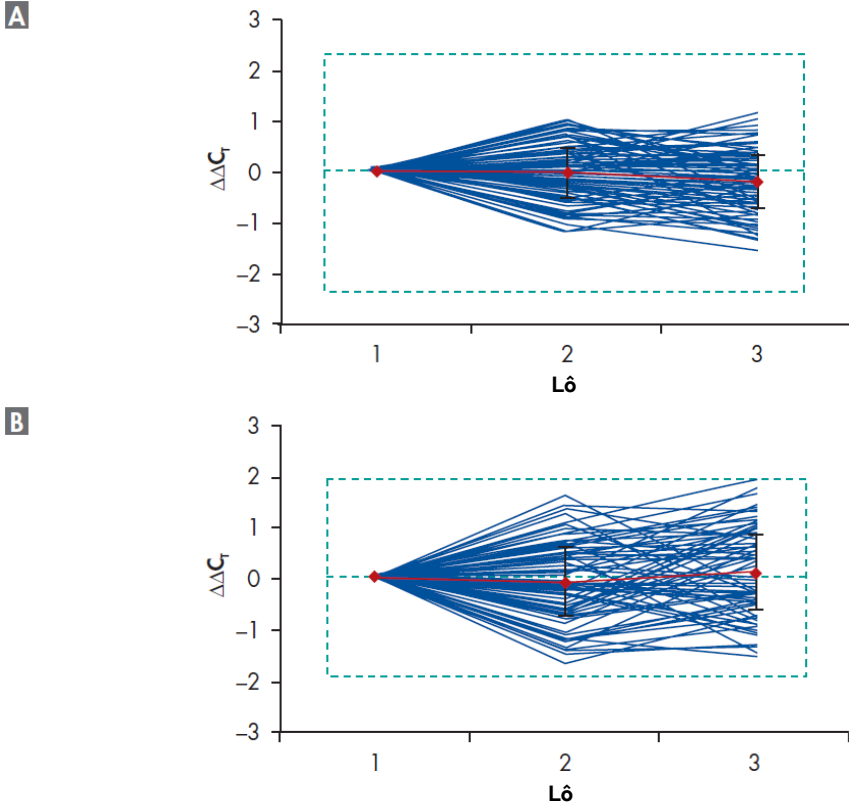
**Bảng 1D. Khả năng tái lập giữa tất cả các lô và tất cả các người dùng cho các nhóm người hiến đã chọn (1, 6, 9, 10)**

Kết hợp dữ liệu	Nhóm người hiến 1 5,1 x 10 <sup>6</sup> tế bào/ml			Nhóm người hiến 6 6,5 x 10 <sup>6</sup> tế bào/ml		
	Năng suất trung bình (µg)	SD (µg)	CV (%)	Năng suất trung bình (µg)	SD (µg)	CV (%)
Lô 1, tất cả người dùng	7,44	1,09	15	9,66	1,65	17
Kết hợp dữ liệu	Nhóm người hiến 9 8,4 x 10 <sup>6</sup> tế bào/ml			Nhóm người hiến 10 10,2 x 10 <sup>6</sup> tế bào/ml		
	Năng suất trung bình (µg)	SD (µg)	CV (%)	Năng suất trung bình (µg)	SD (µg)	CV (%)
Lô 1, tất cả người dùng	8,35	1,70	20	8,99	1,80	20

Phân tích chi tiết 4 nhóm người hiến đại diện. Các nhóm được chọn theo số lượng tế bào bạch cầu và phản ánh các giá trị trên, trung bình và dưới của phạm vi bình thường của số lượng tế bào bạch cầu ( $4,8 \times 10^6 - 1,1 \times 10^7$  bạch cầu/ml). Số lượng tế bào bạch cầu thể hiện giá trị trung bình của 3 số lượng tế bào bạch cầu từ 3 người hiến cho mỗi nhóm người hiến.



**Hình 8. Khả năng tái lập của RT-PCR — giữa các người dùng.** RNA được lọc trong thí nghiệm được mô tả trong Hình 7 được sử dụng cho RT-PCR thời gian thực. Mức phiên mã tương đối của **[A]** FOS và **[B]** IL1B được xác định bằng RT-PCR đôi, thời gian thực, sử dụng rRNA 18S làm tiêu chuẩn nội bộ. Giá trị cho tất cả các mẫu được vẽ sơ đồ, tương ứng với giá trị cho người dùng A (10 nhóm người hiến x 3 lô bộ dụng cụ x 4 mẫu trùng lặp = 120 bộ dữ liệu cho mỗi gen), với giá trị trung bình (đường màu đỏ) và độ lệch chuẩn (thanh màu đen) cho tất cả mẫu được hiển thị. Các đường đứt nét biểu thị tổng độ chính xác  $\pm 3x$  của xét nghiệm (FOS: 2,34  $C_T$ ; IL1B: 1,93  $C_T$ ).



**Hình 9. Khả năng tái lập của RT-PCR — giữa các lô bộ dụng cụ.** RNA được lọc trong thí nghiệm được mô tả trong Hình 7 được sử dụng cho RT-PCR thời gian thực. Mức phiên mã tương đối của [A] FOS và [B] IL1B được xác định bằng RT-PCR đôi, thời gian thực, sử dụng rRNA 18S làm tiêu chuẩn nội bộ. Giá trị cho tất cả các mẫu được vẽ sơ đồ, tương ứng với giá trị cho lô bộ dụng cụ 1 (10 nhóm người hiến x 3 người dùng x 4 mẫu trùng lặp = 120 bộ dữ liệu cho mỗi gen), với giá trị trung bình (đường màu đỏ) và độ lệch chuẩn (thanh màu đen) cho tất cả mẫu được hiển thị. Các đường đứt nét biểu thị tổng độ chính xác  $\pm 3x$  của xét nghiệm (FOS: 2,34  $C_T$ ; IL1B: 1,93  $C_T$ ).

**Bảng 2. Tóm tắt dữ liệu RT-PCR từ Hình 8 và 9**

Hệ thống xét nghiệm	Xét nghiệm FOS/18S rRNA		Xét nghiệm IL1B/18S rRNA	
	Trung bình ( $\Delta\Delta C_T$ )	$\pm$ SD ( $\Delta\Delta C_T$ )	Trung bình ( $\Delta\Delta C_T$ )	$\pm$ SD ( $\Delta\Delta C_T$ )
<b>Khả năng tái lập trong mỗi người dùng và giữa tất cả các lô</b>				
Tất cả người dùng, lô 1–lô 1	0,00	0,00	0,00	0,00
Tất cả người dùng, lô 1–lô 2	-0,03	0,48	-0,07	0,66
Tất cả người dùng, lô 1–lô 3	-0,21	0,52	0,11	0,71
<b>Khả năng tái lập trong mỗi người dùng và giữa tất cả các lô</b>				
Tất cả các lô, người dùng A–người dùng A	0,00	0,00	0,00	0,00
Tất cả các lô, người dùng A–người dùng B	-0,46	0,44	-0,06	0,69
Tất cả các lô, người dùng A–người dùng C	-0,31	0,60	-0,15	0,71

Người dùng: Kỹ thuật viên, đã thực hiện nghiên cứu.

Lô: Mã số lô bộ dụng cụ được sử dụng trong nghiên cứu này.

SD: Độ lệch chuẩn.

Các giá trị  $\Delta\Delta C_T$  trung bình (N = 120) và độ lệch chuẩn được hiển thị cho dữ liệu được trình bày trong Hình 8 và 9.

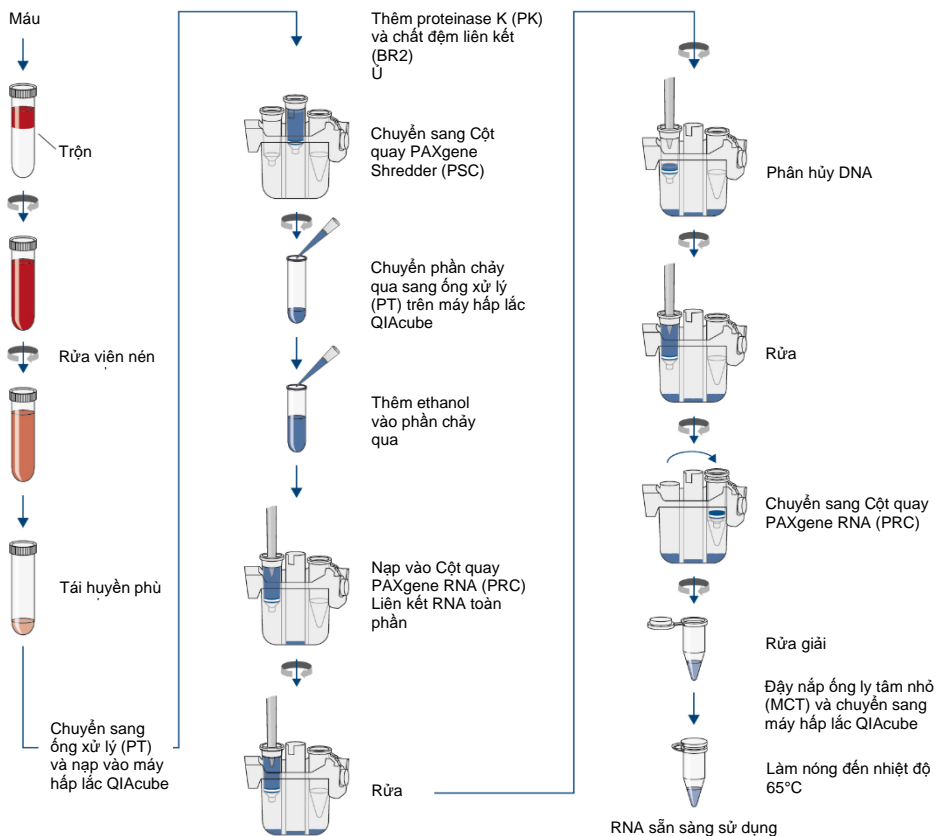
## Lọc RNA tự động

Quá trình lọc RNA máu được tự động hóa trên QIAGEN QIAcube Connect MDx hoặc QIAGEN QIAcube cổ điển (sau đây gọi là QIAcube). Các dụng cụ QIAcube đổi mới sử dụng công nghệ tiên tiến để xử lý cột quay QIAGEN, cho phép tích hợp liền mạch quá trình chuẩn bị mẫu tự động, thông lượng thấp vào quy trình làm việc trong phòng thí nghiệm của bạn. Chuẩn bị mẫu bằng dụng cụ QIAcube tuân theo các bước tương tự như quy trình thủ công (tức là phân giải, liên kết, rửa và rửa giải), cho phép bạn tiếp tục sử dụng PAXgene Blood RNA Kit để lọc RNA chất lượng cao.



**Hình 10. QIAcube Connect MDx.**

Giao thức lọc RNA tự động bao gồm 2 phần (hoặc giao thức, “PAXgene Blood RNA Part A” (PAXgene Blood RNA Phần A) và “PAXgene Blood RNA Part B” (PAXgene Blood RNA Phần B), với sự can thiệp thủ công nhanh gọn giữa 2 phần (xem Hình 11, trang 31).



**Hình 11. Quy trình PAXgene Blood RNA tự động.**

Viên nén axit nucleic được ly tâm, rửa và tái huyền phù (xem “Cô đặc và lọc RNA”, trang 19) được chuyển từ PAXgene Blood RNA Tube (BRT) vào các ống xử lý (PT), được đặt vào máy hấp lắc nhiệt trên bàn làm việc của các dụng cụ QIAcube. Người vận hành chọn và bắt đầu giao thức “PAXgene Blood RNA Part A” (PAXgene Blood RNA Phần A) từ menu. Các dụng cụ QIAcube thực hiện các bước của giao thức cho đến rửa giải RNA trong chất đệm rửa giải (BR5). Người vận hành chuyển các ống ly tâm nhỏ (MCT) chứa RNA đã lọc vào máy hấp lắc nhiệt của các dụng cụ QIAcube. Người vận hành chọn và bắt đầu giao thức

“PAXgene Blood RNA Part B” (PAXgene Blood RNA Phần B) từ menu và quá trình biến chất nhiệt được thực hiện bởi các dụng cụ QIAcube.

Thời gian chuẩn bị mẫu trung bình (dựa trên dữ liệu từ 12 lần chạy chuẩn bị mẫu) là 151 phút\*, với thời gian thực hiện ít hơn đáng kể so với quy trình thủ công.

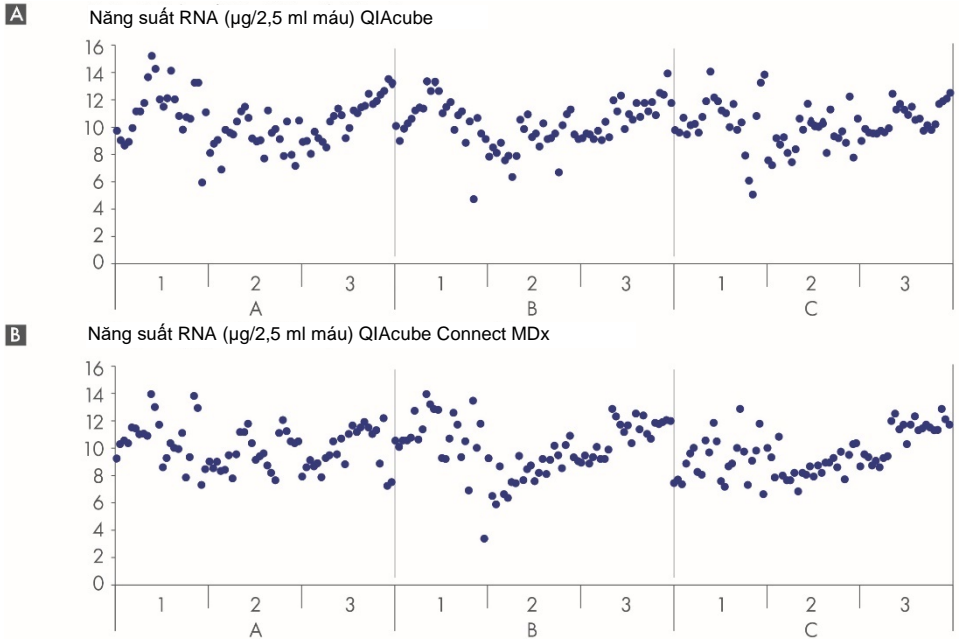
Năng suất RNA từ 2,5 ml máu toàn phần ở người khỏe mạnh là  $\geq 3 \mu\text{g}$  cho  $\geq 95\%$  mẫu được xử lý. Hình 12 (trang 33) cho thấy năng suất RNA từ tổng số 216 mẫu được chuẩn bị bằng cách sử dụng giao thức tự động hóa với 3 lô bộ dụng cụ bởi 3 người vận hành. Vì sử dụng các mẫu máu tổng hợp thay vì PAXgene Blood RNA Tube (BRT) riêng lẻ cho các nghiên cứu này, kết quả không phản ánh năng suất RNA dự kiến từ các mẫu lấy máu riêng lẻ. Vì năng suất phụ thuộc nhiều vào người hiến, năng suất cụ thể có thể khác nhau (Hình 12, page 33).

Ít nhất 95% mẫu không bị ức chế trong RT-PCR, khi sử dụng đến 30% chất rửa giải. Sử dụng giao thức tự động không thể phát hiện nhiễm chéo giữa các mẫu, được đo bằng RT-PCR định lượng, thời gian thực của trình tự phiên mã ABL1 và FOS trong các mẫu âm tính với RNA (nước) ghép cặp với các mẫu dương tính với RNA (máu toàn phần ở người) trong cùng một lần chạy.

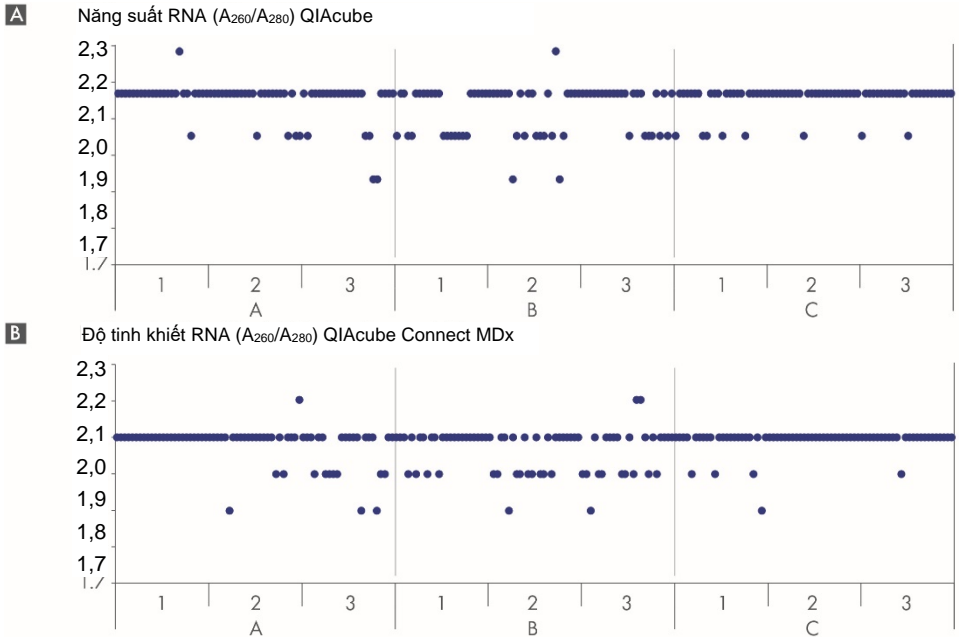
RNA được tách bằng PAXgene Blood RNA System và giao thức tự động là tinh khiết, thể hiện qua việc thiếu ức chế RT-PCR và các giá trị  $A_{260}/A_{280}$  nằm trong khoảng từ 1,8 đến 2,2. DNA hệ gen hiện diện ở mức  $\leq 1\%$  (w/w) trong  $\geq 95\%$  tất cả các mẫu, được đo bằng PCR định lượng, thời gian thực của trình tự gen beta-actin. Hình 13 và 14 (trang 34 và 35) cho thấy các giá trị  $A_{260}/A_{280}$  và DNA hệ gen tương đối của tổng số 216 mẫu được chuẩn bị bằng cách sử dụng giao thức tự động với 3 lô bộ dụng cụ bởi 3 người vận hành.

\* Tổng thời gian chạy giao thức, bao gồm xử lý trước PAXgene Blood RNA Tube (ly tâm, rửa viên nén và tái huyền phù viên nén).

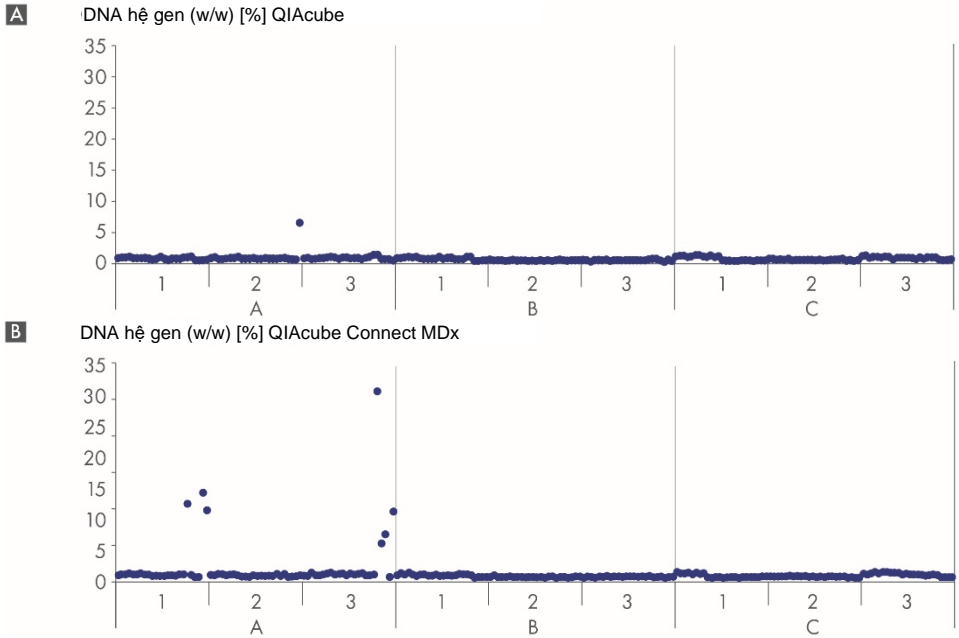




**Hình 12. Năng suất RNA — xử lý tự động A: QIAcube, B: QIAcube Connect MDx.** Mẫu máu của từng người hiến được thu trong PAXgene Blood RNA Tube (BRT). Thành phần của các ống được nhóm thành 6 nhóm người hiến và sau đó được phân chia lại. Tổng cộng 216 ống (tức là 36 ống mỗi nhóm) được xử lý bởi 3 người vận hành khác nhau (A, B, C). Mỗi người vận hành sử dụng 3 lô khác nhau (1, 2, 3) của PAXgene Blood RNA Kit để tách chiết tự động bằng nhiều dụng cụ QIAcube và QIAcube Connect MDx và xử lý bốn mẫu trùng lặp từ mỗi trong số 6 nhóm người hiến. Năng suất RNA của tất cả các mẫu riêng lẻ được hiển thị cho mọi kết hợp người vận hành-lô.

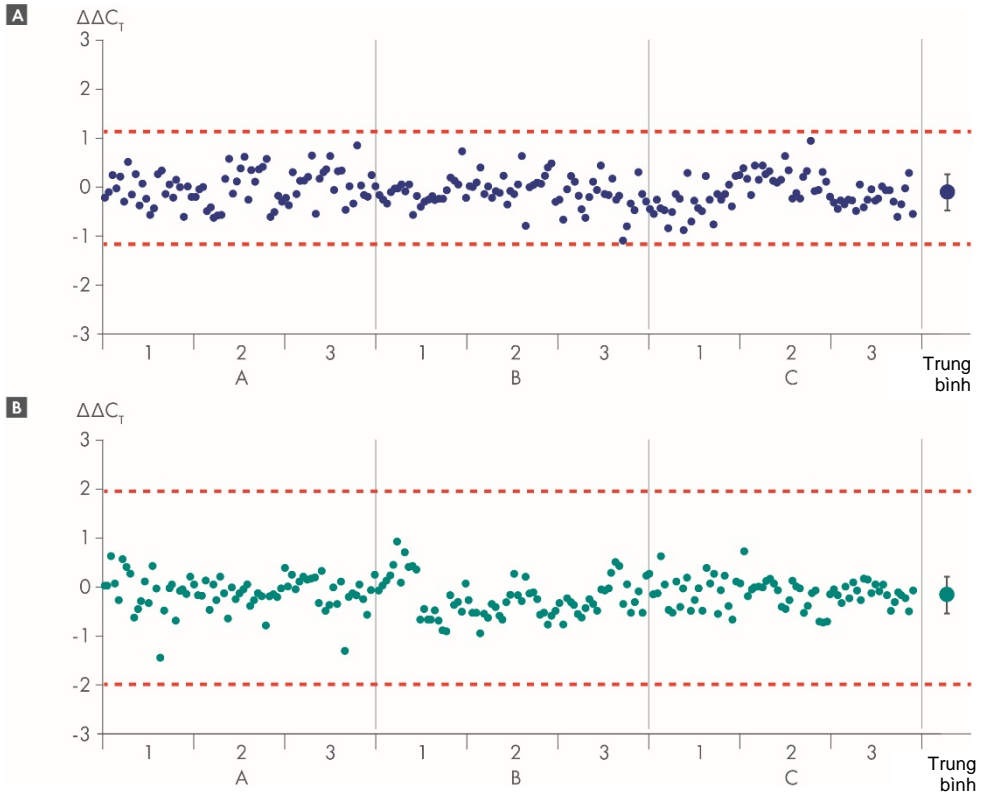


**Hình 13. Độ tinh khiết RNA (các giá trị  $A_{260}/A_{280}$ ) — xử lý tự động. A: QIAcube, B: QIAcube Connect MDx** RNA được lọc bởi 3 người vận hành khác nhau (A, B, C) bằng cách sử dụng 3 lô khác nhau (1, 2, 3) của PAXgene Blood RNA Kit với nhiều dụng cụ QIAcube và QIAcube Connect MDx trong thí nghiệm được mô tả trong Hình 12. Các giá trị  $A_{260}/A_{280}$  của tất cả các mẫu riêng lẻ được hiển thị cho mọi kết hợp người vận hành–lô.

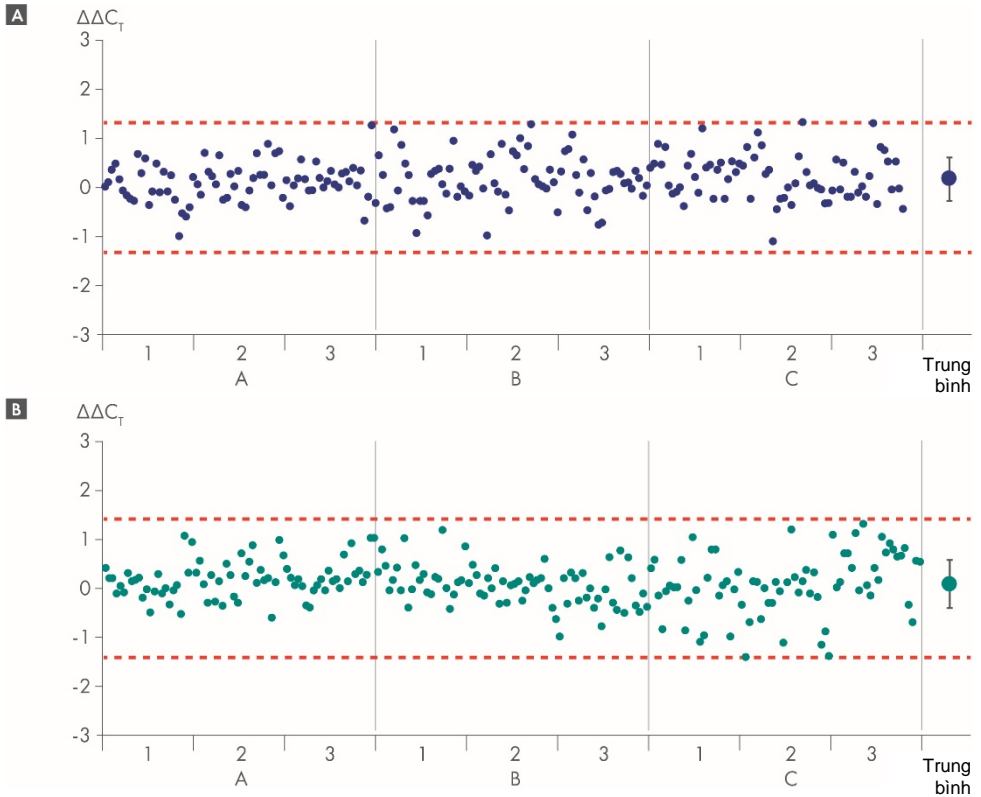


**Hình 14. Độ tinh khiết RNA (% nhiễm bản DNA hệ gen) — xử lý tự động, A: QIAcube, B: QIAcube Connect MDx.** RNA được lọc bởi 3 người vận hành khác nhau (A, B, C) bằng cách sử dụng 3 lô khác nhau (1, 2, 3) của PAXgene Blood RNA Kit với nhiều dụng cụ QIAcube và QIAcube Connect MDx trong thí nghiệm được mô tả trong Hình 12. Lượng DNA hệ gen (w/w) trong tất cả các mẫu riêng lẻ được hiển thị cho mọi kết hợp người vận hành–lô.

Giao thức lọc RNA tự động sử dụng PAXgene Blood RNA System cung cấp kết quả RT-PCR có khả năng tái lập và lặp lại cao, như thể hiện trong Hình 15 và Hình 16 (trang 36 và 37), khiến hệ thống hoàn toàn phù hợp cho các xét nghiệm chẩn đoán lâm sàng.



**Hình 15. Khả năng tái lập của RT-PCR — giữa các giao thức tự động (QIACube) và thủ công.** RNA được lọc bởi 3 người vận hành khác nhau (A, B, C) bằng cách sử dụng 3 lô khác nhau (1, 2, 3) của PAXgene Blood RNA Kit với nhiều dụng cụ QIACube và QIACube Connect MDx sử dụng giao thức tự động trong thí nghiệm được mô tả trong Hình 12. Song song đó, RNA được lọc từ các ống trùng lặp tương ứng bằng giao thức thủ công. Mức phiên mã tương đối của [A] FOS và [B] IL1B được xác định bằng RT-PCR đôi, thời gian thực, sử dụng rRNA 18S làm tiêu chuẩn nội bộ. Sự khác biệt có thể có về mức phiên mã giữa RNA được chuẩn bị từ các mẫu máu được ghép cặp bằng cách sử dụng cả hai giao thức tách chiết (giao thức tự động và thủ công) được tính bằng phương pháp  $\Delta\Delta C_T$ . Các giá trị  $\Delta\Delta C_T$  riêng lẻ cho tất cả các cặp mẫu (4 mẫu trùng lặp x 6 nhóm người hiến x 3 lô bộ dụng cụ x 3 người vận hành = 216 cặp cho mỗi gen) được vẽ sơ đồ dưới dạng các chấm đơn với giá trị trung bình (chấm lớn hơn) và độ lệch chuẩn (thanh màu đen) cho tất cả mẫu được trình bày. Các đường đứt nét biểu thị tổng độ chính xác  $\pm 3x$  của xét nghiệm (FOS: 1,16  $C_T$ ; IL1B: 1,98  $C_T$ ; độ chính xác của các xét nghiệm khác nhau so với Hình 1–4, 8, và 9 do các phiên bản xét nghiệm khác nhau).



**Hình 16. Khả năng tái lập của RT-PCR — giữa QIAcube và QIAcube Connect MDx sử dụng giao thức tự động.** RNA được lọc bởi 3 người vận hành khác nhau (A, B, C) bằng cách sử dụng 3 lô khác nhau (1, 2, 3) của PAXgene Blood RNA Kit sử dụng giao thức tự động trên nhiều dụng cụ QIAcube và QIAcube Connect MDx trong thí nghiệm được mô tả trong Hình 12. Mức phiên mã tương đối của **[A] FOS** và **[B] IL1B** được xác định bằng RT-PCR đôi, thời gian thực, sử dụng rRNA 18S làm tiêu chuẩn nội bộ. Sự khác biệt có thể có về mức phiên mã giữa RNA được chuẩn bị từ các mẫu máu được ghép cặp bằng cách sử dụng cả hai dụng cụ được tính bằng phương pháp  $\Delta\Delta C_T$ . Các giá trị  $\Delta\Delta C_T$  riêng lẻ cho tất cả các cặp mẫu (4 mẫu trùng lặp x 6 nhóm người hiến x 3 lô bộ dụng cụ x 3 người vận hành = 216 cặp cho mỗi gen) được vẽ sơ đồ dưới dạng các chấm đơn với giá trị trung bình (chấm lớn hơn) và độ lệch chuẩn (thanh màu đen) cho tất cả mẫu được trình bày. Các đường đứt nét biểu thị tổng độ chính xác  $\pm 3x$  của xét nghiệm (FOS: 1,30  $C_T$ ; IL1B: 1,42  $C_T$ ; độ chính xác của các xét nghiệm khác nhau so với Hình 1–4, 8, 9 và 15 do các phiên bản xét nghiệm khác nhau).

# Thiết bị và Thuốc thử do Người dùng Cung cấp

Khi làm việc với hóa chất, luôn mang áo choàng phòng thí nghiệm, găng tay dùng một lần và kính bảo hộ phù hợp. Để biết thêm thông tin, hãy tham khảo bảng chỉ dẫn an toàn (safety data sheet, SDS) thích hợp, có sẵn từ nhà cung cấp sản phẩm.

## Đối với tất cả các giao thức

- PAXgene Blood RNA Tube (BRT, PreAnalytiX; số danh mục 762165)
- Ethanol (96–100%, độ tinh khiết p.a.)
- Pipet\* (10 µl – 4 ml)
- Đầu tip pipet không có RNase, vô trùng, có tắc chắn sol khí<sup>†</sup>
- Xy lanh có chia độ<sup>‡</sup>
- Máy ly tâm\* có khả năng đạt được 3000–5000 x g và được trang bị rôto xoay và thùng để giữ PAXgene Blood RNA Tube (BRT)
- Máy trộn xoáy\*
- Đá bào
- Bút không phai để ghi nhãn

## Đối với giao thức thủ công

- Máy ly tâm nhỏ biến tốc\* có khả năng đạt được phạm vi ít nhất 1000–8000 x g, mặc dù có thể áp dụng lực g thấp hơn và cao hơn (xem các bước giao thức để biết chi tiết) và được trang bị rôto cho ống ly tâm nhỏ 2 ml

\* Đảm bảo rằng các thiết bị và dụng cụ đã được kiểm tra, bảo trì và hiệu chỉnh thường xuyên theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

<sup>†</sup> Đảm bảo rằng bạn nắm rõ các hướng dẫn về xử lý RNA (Phụ lục A, trang 71).

<sup>‡</sup> Để thêm ethanol vào Chất đệm BR4 cô đặc.

- Máy hấp lắ-ủ\* có khả năng ủ ở nhiệt độ 55°C và 65°C và lắ ở  $\geq 400$  rpm, không vượt quá 1400 rpm (ví dụ: Eppendorf® Thermomixer Compact hoặc tương đương)

### **Đối với giao thức tự động (sử dụng QIAcube hoặc QIAcube Connect MDx)**

- Kéo

Vật tư tiêu hao của các dụng cụ QIAcube:

- Filter-Tips, 1000  $\mu$ l (1024) (QIAGEN, số hạng mục 990352)†
- Reagent Bottles, 30 ml (6) (QIAGEN, số hạng mục 990393)†
- Rotor Adapters (10 x 24) (QIAGEN, số hạng mục 990394)†

Phụ kiện của các dụng cụ QIAcube:

- Rotor Adapter Holder (QIAGEN, số hạng mục 990392)†

### **Đối với giao thức tự động sử dụng QIAcube Connect MDx**

- QIAcube Connect MDx\* (QIAGEN, số hạng mục 9003070)

Gói dịch vụ QIAcube Connect MDx:

- QIAcube Connect MDx System FUL-2 (QIAGEN, số hạng mục 9003071)
- QIAcube Connect MDx System FUL-3 (QIAGEN, số hạng mục 9003072)
- QIAcube Connect MDx System PRV-1 (QIAGEN, số hạng mục 9003073)
- QIAcube Connect MDx Device PRV-1 (QIAGEN, số hạng mục 9003074)
- QIAcube Connect MDx System PRM-1 (QIAGEN, số hạng mục 9003075)

\* Đảm bảo rằng các thiết bị và dụng cụ đã được kiểm tra, bảo trì và hiệu chỉnh thường xuyên theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

† Cũng được bao gồm trong Starter Pack, QIAcube (QIAGEN, số hạng mục 990395).

## **Đối với giao thức tự động sử dụng QIAcube**

- QIAcube\* (QIAGEN, số hạng mục 9001882 [110 V])

\* Đảm bảo rằng các thiết bị và dụng cụ đã được kiểm tra, bảo trì và hiệu chỉnh thường xuyên theo khuyến cáo của nhà sản xuất.



# Lưu ý Quan trọng

## Sử dụng các dụng cụ QIAcube

Đảm bảo rằng bạn đã quen với việc vận hành dụng cụ QIAcube. Vui lòng đọc Hướng dẫn Sử dụng dụng cụ QIAcube thích hợp và bất kỳ thông tin bổ sung nào được cung cấp cùng với dụng cụ QIAcube, chú ý kỹ phần thông tin an toàn, trước khi bắt đầu các giao thức PAXgene Blood RNA tự động.

Hướng dẫn trong phần này áp dụng cho QIAcube Connect MDx cũng như QIAcube khi không được chỉ định riêng.

## Khởi động các dụng cụ QIAcube

Đóng nắp dụng cụ QIAcube và bật dụng cụ QIAcube bằng công tắc nguồn (QIAcube Connect MDx: xem Hình 17, trang 42; QIAcube: Hình 18, trang 43).

Tiếng bíp phát ra và màn hình khởi động xuất hiện. Dụng cụ tự động thực hiện các thử nghiệm khởi tạo.



Mặt trước của QIAcube Connect MDx



Màn hình cảm ứng được kéo ra



Mặt sau của QIAcube Connect MDx



Mặt sau của QIAcube Connect MDx

Hình 17. Các tính năng bên ngoài của QIAcube Connect MDx.

- |   |  |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>① Màn hình cảm ứng</li> <li>② Nắp</li> <li>③ Ngăn kéo chất thải</li> <li>④ Công tắc nguồn</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>⑤ 2 cổng USB ở bên trái màn hình cảm ứng; 2 cổng USB phía sau màn hình cảm ứng (mô-đun Wi-Fi được cắm vào 1 cổng USB)</li> <li>⑥ Cổng Ethernet RJ-45</li> <li>⑦ Ổ cắm dây nguồn</li> <li>⑧ Cửa ra khí làm lạnh</li> </ul> |
|---|--|



Hình 18. Mặt trước của QIAcube.

- |   |   |   |                               |
|---|---|---|-------------------------------|
| 1 | Màn hình cảm ứng  | 4 | Cổng USB phía sau băng bảo vệ |
| 2 | Nắp   | 5 | Công tắc nguồn                |
| 3 | Cổng nối tiếp RS232 phía sau băng bảo vệ (chỉ dành cho Chuyên gia Dịch vụ Dụng cụ QIAGEN) | 6 | Ngăn kéo chất thải            |

## Màn hình cảm ứng

Các dụng cụ QIAcube được điều khiển bằng màn hình cảm ứng. Màn hình cảm ứng cho phép người dùng vận hành dụng cụ và hướng dẫn người dùng thiết lập bàn làm việc. Trong quá trình xử lý mẫu, màn hình cảm ứng hiển thị trạng thái giao thức và thời gian còn lại.



Hình 19. Màn hình cảm ứng được kéo ra của QIAcube Connect MDx

## Cài đặt giao thức trên dụng cụ QIAcube

Có thể yêu cầu cài đặt giao thức ban đầu trước khi có thể thực hiện lần chạy chuẩn bị RNA đầu tiên trên các dụng cụ QIAcube. Cài đặt cả hai giao thức “PAXgene Blood RNA Part A” (PAXgene Blood RNA Phần A) và “PAXgene Blood RNA Part B” (PAXgene Blood RNA Phần B).

Các giao thức cho QIAcube Connect MDx được cung cấp tại **[www.qiagen.com/products/diagnostics-and-clinical-research/solutions-for-laboratory-developed-tests/qiacube-connect-mdx/#resources](http://www.qiagen.com/products/diagnostics-and-clinical-research/solutions-for-laboratory-developed-tests/qiacube-connect-mdx/#resources)** ([www.qiagen.com/MyQIAcube](http://www.qiagen.com/MyQIAcube) cho QIAcube) và cần được tải xuống USB đi kèm với các dụng cụ QIAcube. Các giao thức này sẽ được chuyển đến dụng cụ thông qua cổng USB.

Cổng USB (QIAcube Connect MDx: nằm ở cạnh bên màn hình cảm ứng, xem Hình 17, trang 42; QIAcube: phía sau bảng bảo vệ, xem Hình 18, trang 43) cho phép kết nối dụng cụ QIAcube với USB được cung cấp cùng với dụng cụ QIAcube. Các tệp dữ liệu, chẳng hạn như tệp nhật ký hoặc tệp báo cáo cũng có thể được chuyển qua cổng USB từ các dụng cụ QIAcube sang USB.



Chỉ được sử dụng cổng USB cho USB do QIAGEN cung cấp. Không kết nối các thiết bị khác với cổng này.



Không tháo USB trong khi tải xuống giao thức hoặc truyền tệp dữ liệu hoặc trong khi chạy giao thức.

Để biết thêm chi tiết về quy trình tải các giao thức lên các dụng cụ QIAcube, vui lòng xem sổ tay liên quan cho dụng cụ được sử dụng.

## Nạp các dụng cụ QIAcube

Để tiết kiệm thời gian, có thể thực hiện nạp trong một hoặc cả hai bước ly tâm kéo dài 10 phút (bước 3 và 5) trong “Giao thức: Lọc Tự động RNA Toàn phần từ Máu Toàn phần ở Người được Thu vào PAXgene Blood RNA Tube (BRT)”, trang 62.

### Chai thuốc thử

Trước mỗi lần chạy trên dụng cụ QIAcube, cần thận đổ thuốc thử vào 4 chai thuốc thử được liệt kê trong Bảng 3 (trang 46) lên đến mức chỉ báo tối đa hoặc, nếu không thể, thì đổ đến mức thể tích chất đệm cho phép được cung cấp trong PAXgene Blood RNA Kit. Ghi nhãn rõ ràng cho các chai và nắp với tên chất đệm và đặt các chai thuốc thử đã được đổ đầy vào các vị trí thích hợp trên giá đỡ chai thuốc thử. Nạp giá đỡ lên bàn làm việc của dụng cụ QIAcube như hình minh họa (Hình 20 - 22, trang 46 - 48).



Thể tích Chất đệm BR2 được cung cấp sẽ không làm đầy chai thuốc thử đến mức chỉ báo. Chất đệm BR3 và BR4 có thể không làm đầy chai đến mức chỉ báo sau khi xử lý nhiều mẫu trong các lần chạy trước.



Đảm bảo tháo nắp khỏi chai trước khi đặt lên bàn làm việc.



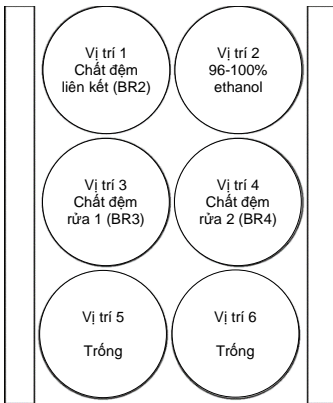
Thể tích chất đệm được cung cấp trong PAXgene Blood RNA Kit (50) đủ cho tối đa 7 lần chạy chuẩn bị RNA trên dụng cụ QIAcube với số lượng mẫu từ 2 đến 12 mỗi lần chạy. Nói chung, nên tránh các lần chạy với số lượng mẫu thấp hơn để xử lý tổng số 50 mẫu trên mỗi bộ dụng cụ với tối đa 7 lần chạy chuẩn bị RNA. Hơn 7 lần chạy chuẩn bị RNA có thể dẫn đến không đủ thể tích chất đệm để xử lý các mẫu cuối cùng.

**Bảng 3. Các vị trí trong giá đỡ chai thuốc thử**

Vị trí	Thuốc thử
1	Chất đệm liên kết (BR2)
2	96-100% ethanol
3	Chất đệm rửa 1 (BR3)
4	Chất đệm rửa 2 (BR4)*
5	– (để trống)
6	– (để trống)

\* Chất đệm rửa 2 (BR4) được cung cấp dưới dạng cô đặc. Trước khi sử dụng lần đầu tiên, thêm 4 thể tích ethanol (96–100%, độ tinh khiết p.a.), như được chỉ định trên chai, để thu được dung dịch làm việc.

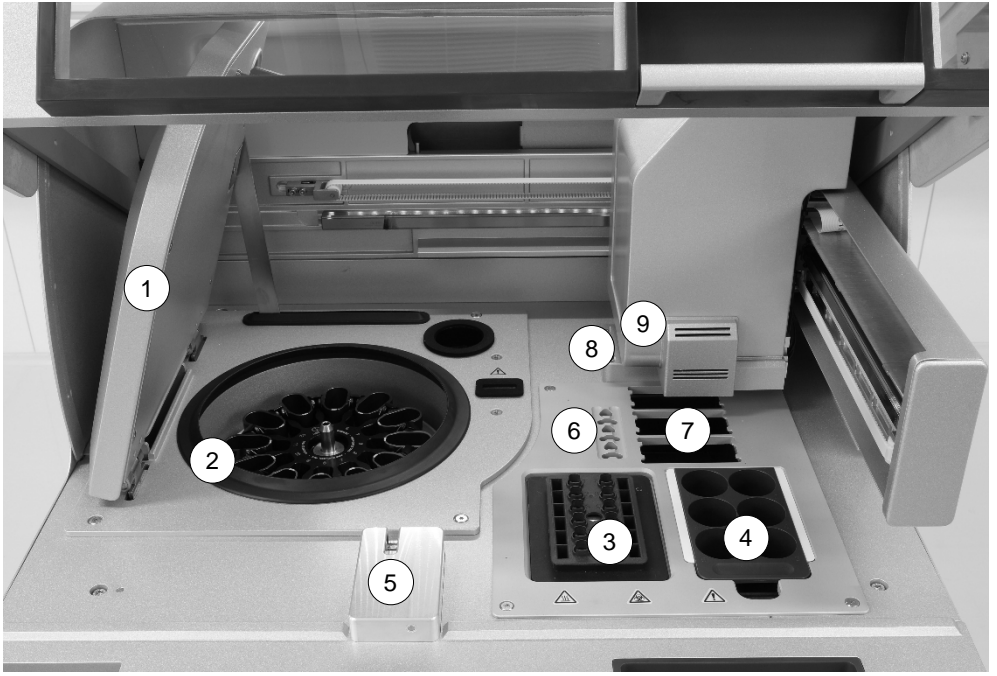
**A**



**B**

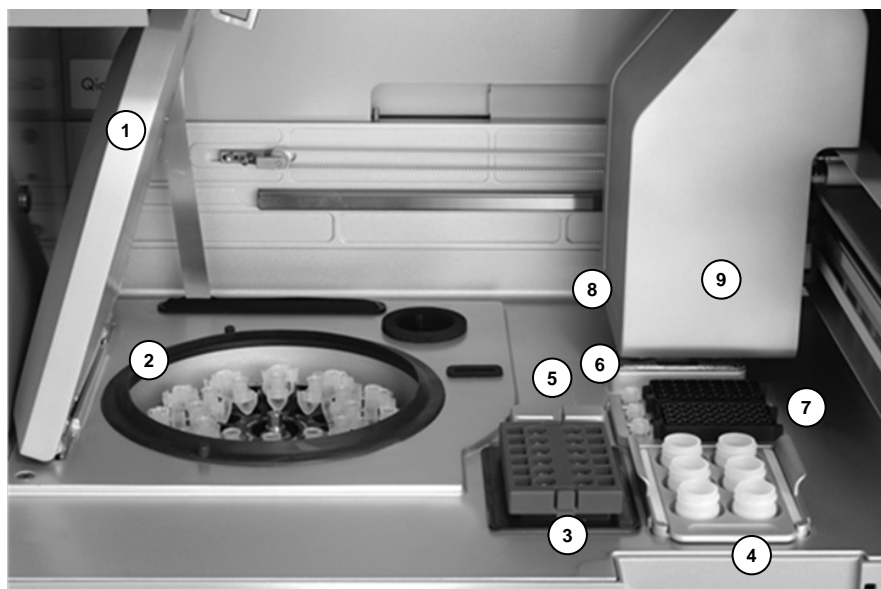


**Hình 20. Nạp giá đỡ chai thuốc thử.** [A] Sơ đồ vị trí và thành phần của các chai trong giá đỡ chai thuốc thử. [B] Nạp giá đỡ lên dụng cụ QIAcube (QIAcube được trình bày làm ví dụ).



**Hình 21. Mặt trong của QIAcube Connect MDx.**

- |   |                              |   |   |
|---|------------------------------|---|---|
| 1 | Nắp máy ly tâm               | 6 | Khe ống ly tâm nhỏ  |
| 2 | Máy ly tâm                   | 7 | 3 khe cho giá đỡ đầu tip  |
| 3 | Máy hấp lắc                  | 8 | Các khe thái bỏ đầu tip và cột  |
| 4 | Giá đỡ chai thuốc thử        | 9 | Cánh tay người máy (bao gồm pipet 1 kênh, tay kẹp, cảm biến siêu âm và quang học và đèn LED UV) |
| 5 | Cảm biến đầu tip và khóa nắp |   |   |



**Hình 22. Mặt trong của QIAcube.**

- |   |   |
|---|---|
| <p>① Nắp máy ly tâm</p> <p>② Máy ly tâm</p> <p>③ Máy hấp lặc</p> <p>④ Giá đỡ chai thuốc thử</p> <p>⑤ Cảm biến đầu tip</p> | <p>⑥ Khe ống ly tâm nhỏ</p> <p>⑦ Giá đỡ đầu tip</p> <p>⑧ Các khe thải bỏ đầu tip và cột</p> <p>⑨ Cánh tay người máy</p> |
|---|---|



Cột quay (PRC, PSC), ống ly tâm nhỏ (MCT) và bộ phận nhựa cho dụng cụ QIAcube

Đặt 2 giá đỡ đầu tip chứa đầy Filter-Tips 1000 µl lên dụng cụ QIAcube (xem Hình 21 và 22, trang 47 và 48). Bỏ sung đầu tip vào giá đỡ khi cần thiết.



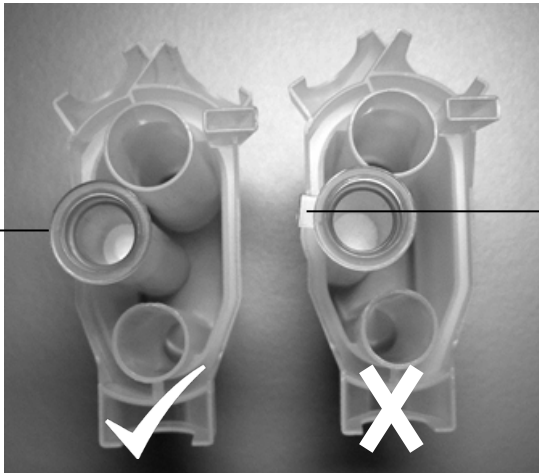
Chỉ sử dụng đầu tip bộ lọc 1000 µl được thiết kế để sử dụng với các dụng cụ QIAcube.

Ghi nhãn bộ tiếp hợp rôto và ống ly tâm nhỏ (MCT) cho mỗi mẫu bằng bút không phai. Mở các cột quay PAXgene Shredder (PSC) sẽ được sử dụng và cắt hoàn toàn các nắp bằng kéo (xem Hình 23, trang 49).



Để vận hành chính xác tay kẹp người máy của các dụng cụ QIAcube, hãy tháo (cắt bỏ) hoàn toàn các nắp và tất cả các bộ phận bằng nhựa kết nối nắp với các cột quay PAXgene Shredder (PSC; xem Hình 23). Nếu không, tay kẹp người máy không thể kẹp các cột quay (PSC, PRC) đúng cách.

Nắp cột  
được tháo  
đúng cách



Nắp cột  
được tháo  
không đúng  
cách; một  
phần của  
nắp vẫn còn  
gắn vào

**Hình 23. Nắp cột quay PAXgene Shredder (PSC).** Cột quay PAXgene Shredder (PSC) được nạp vào vị trí giữa của bộ tiếp hợp rôto. Cắt bỏ nắp trước khi nạp cột.

Nạp cột quay PAXgene RNA (PRC), cột quay PAXgene Shredder (PSC; không có nắp, xem Hình 23, trang 49) và ống ly tâm nhỏ được ghi nhãn vào các vị trí thích hợp trong mỗi bộ tiếp hợp rôto được ghi nhãn như trình bày trong Bảng 4 và Hình 24.

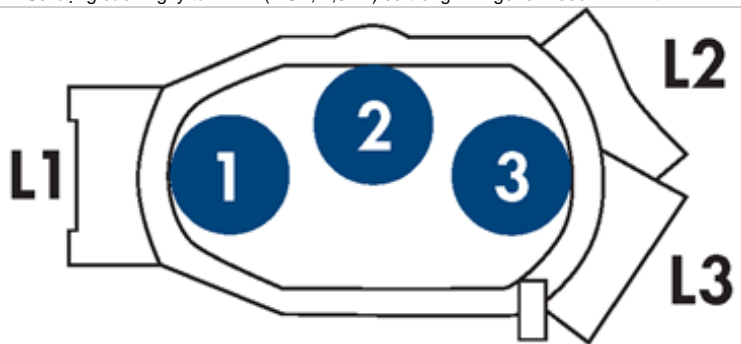


Đảm bảo rằng nắp cột quay (PRC) và ống ly tâm nhỏ (MCT) được đẩy hết cỡ xuống đáy của các khe ở mép bộ tiếp hợp rôto, nếu không các nắp sẽ bị vỡ trong quá trình ly tâm.

**Bảng 4. Dụng cụ phòng thí nghiệm trong bộ tiếp hợp rôto**

Vị trí	Thuốc thử	Vị trí nắp
1	Cột quay PAXgene RNA (màu đỏ, PRC)	L1
2	Cột quay PAXgene Shredder (màu tím hoa cà, PSC) (cắt bỏ nắp trước khi đặt vào bộ tiếp hợp rôto)	–
3	Ống ly tâm nhỏ (MCT)*	L3

\* Sử dụng các ống ly tâm nhỏ (MCT; 1,5 ml) có trong PAXgene Blood RNA Kit.



**Hình 24. Các vị trí trong bộ tiếp hợp rôto.** Bộ tiếp hợp rôto có ba vị trí ống (1–3) và ba vị trí nắp (L1–L3).

## Nạp máy ly tâm

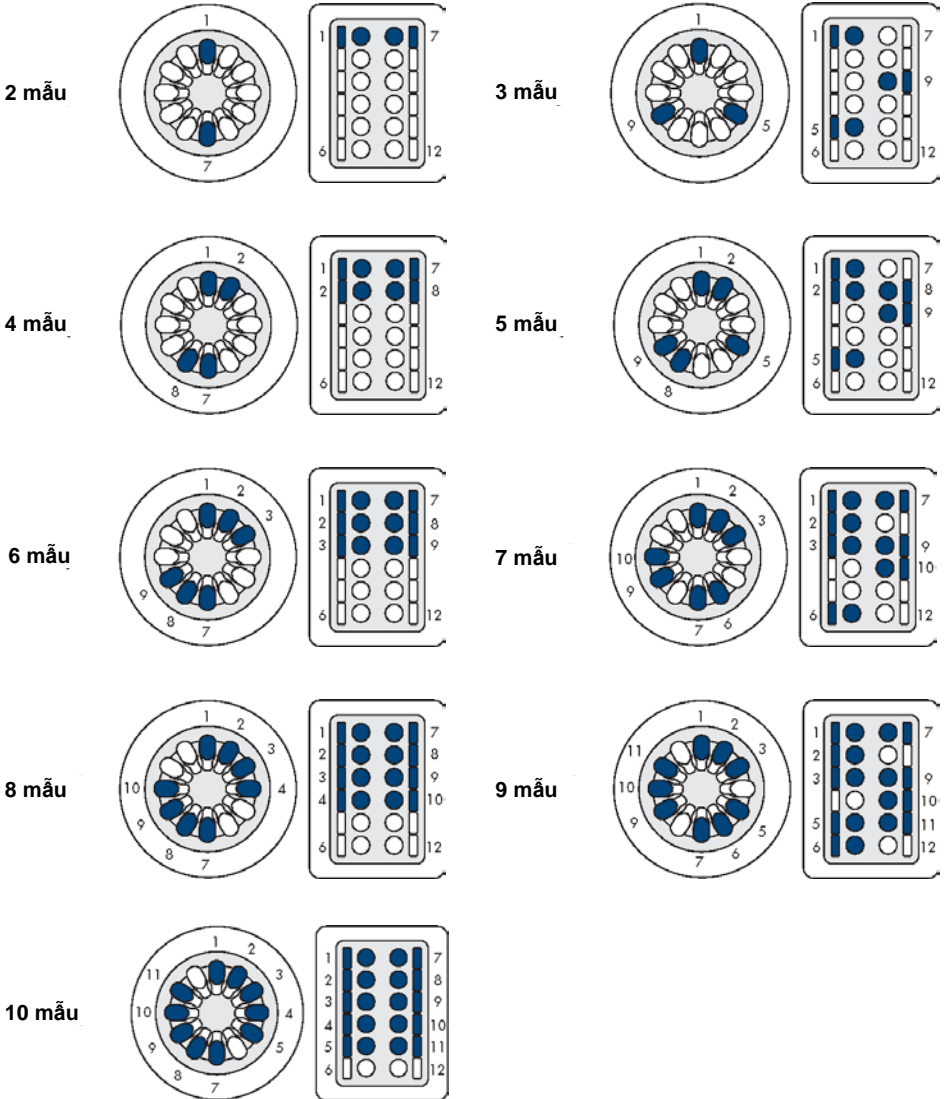
Nạp các bộ điều hợp rôto đã lắp ráp vào thùng máy ly tâm như thể hiện trong Hình 25 bên dưới.



Nếu xử lý ít hơn 12 mẫu, hãy đảm bảo nạp rôto ly tâm cân bằng xuyên tâm (xem Hình 26, trang 52). Tất cả các thùng máy ly tâm phải được lắp trước khi bắt đầu chạy giao thức, ngay cả khi xử lý ít hơn 12 mẫu. Không thể xử lý (một) mẫu duy nhất hoặc 11 mẫu.



**Hình 25. Nạp máy ly tâm vào các dụng cụ QIAcube.** Nạp các bộ tiếp hợp rôto đã lắp ráp vào thùng máy ly tâm (QIAcube Connect MDx được minh họa làm ví dụ).



**Hình 26. Nạp máy ly tâm và máy hấp lức.** Vị trí máy ly tâm và máy hấp lức được hiển thị để xử lý từ hai (2) đến mười (10) mẫu. Không thể xử lý một (1) hoặc 11 mẫu. Để xử lý 12 mẫu, tất cả các vị trí của máy ly tâm và máy hấp lức đều được nạp (hình ảnh không được hiển thị).

## Ống xử lý (PT)

Tháo bất kỳ ống xử lý (PT) nào còn sót lại trong khe ống ly tâm nhỏ từ các lần chạy trước (QIACube Connect MDx: xem Hình 21, trang 47, QIACube: xem Hình 22, trang 48). Đổ đầy 3 ống xử lý (PT) với lượng thuốc thử cho trong Bảng 5 theo số lượng mẫu trong lần chạy.

Đối với hỗn hợp ủ DNase I, hút thể tích chất đệm phân hủy DNA (RDD) được chỉ định vào ống xử lý (PT) và thêm thể tích dung dịch gốc DNase I (RNFD) được chỉ định. Trộn nhẹ nhàng hỗn hợp hoàn chỉnh lên và xuống 3 lần bằng cách dùng đầu tip pipet 1000 µl.

Sử dụng các ống xử lý (PT) 2 ml có trong PAXgene Blood RNA Kit. Ghi nhãn rõ ràng các ống với tên thuốc thử và đặt ống vào vị trí thích hợp trong các khe ống ly tâm nhỏ, như được chỉ ra trong Bảng 6 (trang 54).



DNase I (RNFD) đặc biệt nhạy cảm với biến chất vật lý. Chỉ trộn bằng pipet, sử dụng các đầu tip pipet có lỗ rộng để giảm cắt nghiền. Không xoay.



Đảm bảo chỉ hút thể tích cần thiết như được chỉ ra trong Bảng 5 bên dưới.

**Bảng 5. Thể tích thuốc thử cần thiết trong các ống xử lý cho các khe ống ly tâm nhỏ.**

Thể tích thuốc thử cho số lượng mẫu đã chỉ định (µl)			
Số lượng mẫu	Proteinase K (PK)	Hỗn hợp ủ DNase I	Chất đệm rửa giải (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

**Bảng 6. Khe ống ly tâm nhỏ**

	Vị trí		
	A	B	C
<b>Thành phần</b>	Proteinase K	Hỗn hợp ừ DNase I	Chất đệm rửa giải (BR5)
<b>Vật chứa</b>	Ống xử lý (PT)*	Ống xử lý (PT)*	Ống xử lý (PT)*

\* Sử dụng các ống xử lý 2 ml có trong PAXgene Blood RNA Kit.

# Giao thức: Lọc Thủ công RNA Toàn phần từ Máu Toàn phần ở Người được Thu vào PAXgene Blood RNA Tube (BRT)

Những điểm quan trọng trước khi bắt đầu

- Đảm bảo rằng hộp bộ dụng cụ còn nguyên vẹn và không bị hỏng và các chất đệm không bị rò rỉ. Không sử dụng bộ dụng cụ bị hỏng.
- Khi sử dụng pipet, hãy đảm bảo rằng pipet được đặt ở đúng thể tích và chất lỏng được hút và phân phát cẩn thận và hoàn toàn.
- Để tránh chuyển mẫu sang sai ống hoặc cột quay, hãy đảm bảo rằng tất cả các ống và cột quay được ghi nhãn thích hợp bằng bút không phai. Ghi nhãn trên nắp và thân mỗi ống (PT, MCT). Đối với cột quay, hãy ghi nhãn cho phần thân ống xử lý (PT). Đóng từng ống hoặc cột quay sau khi chất lỏng được chuyển sang ống.
- Việc rơi vãi mẫu và chất đệm trong quá trình này có thể làm giảm năng suất và độ tinh khiết của RNA.
- Trừ khi có chỉ định khác, tất cả các bước của giao thức này, bao gồm cả các bước ly tâm, phải được thực hiện ở nhiệt độ phòng (15–25°C).

Do độ nhạy của công nghệ khuếch đại axit nucleic, các biện pháp phòng ngừa sau là cần thiết khi xử lý mẫu để tránh nhiễm bẩn chéo:

- Cẩn thận hút mẫu vào cột quay (PRC, PSC) mà không làm ướt viền cột.
- Luôn thay đầu tip pipet giữa các lần chuyển chất lỏng. Sử dụng các đầu tip pipet có tấm chắn sol khí.
- Tránh chạm màng cột quay (PRC, PSC) bằng đầu tip pipet.

- Sau khi xoáy hoặc làm nóng ống ly tâm nhỏ (MCT), ly tâm nhanh để loại bỏ các giọt từ bên trong nắp.
- Mang găng tay trong suốt quy trình. Trong trường hợp găng tay tiếp xúc với mẫu, hãy thay găng tay ngay lập tức.
- Đóng cột quay (PRC, PSC) trước khi đặt vào máy ly tâm nhỏ. Ly tâm như mô tả trong quy trình.
- Mỗi lần chỉ mở một cột quay (PRC, PSC) và cẩn thận để tránh tạo ra sol khí.
- Để xử lý song song hiệu quả nhiều mẫu, hãy làm đầy giá đỡ bằng các ống xử lý (PT) mà các cột quay (PRC, PSC) có thể được chuyển sang sau khi ly tâm. Thải bỏ các ống xử lý (PT) đã sử dụng có chứa phần chảy qua và đặt các ống xử lý (PT) mới có chứa các cột quay (PRC, PSC) trực tiếp vào máy ly tâm nhỏ.

#### Những việc cần làm trước khi bắt đầu

- Máu phải được thu trong PAXgene Blood RNA Tube (BRT) theo hướng dẫn trong *Sổ tay PAXgene Blood RNA Tube*. Nếu cần, hãy xem Phụ lục C (trang 74) để biết các khuyến cáo về việc xử lý PAXgene Blood RNA Tube (BRT).
- Đảm bảo rằng PAXgene Blood RNA Tube (BRT) được ủ ít nhất 2 giờ ở nhiệt độ phòng sau khi lấy máu để đảm bảo quá trình phân giải hoàn toàn các tế bào máu. Việc ủ PAXgene Blood RNA Tube (BRT) qua đêm có thể làm tăng năng suất. Nếu PAXgene Blood RNA Tube (BRT) được bảo quản ở nhiệt độ 2–8°C, –20°C hoặc –70°C sau khi lấy máu, trước tiên hãy cân bằng ống về nhiệt độ phòng và sau đó bảo quản ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ trước khi bắt đầu quy trình.
- Đọc thông tin an toàn trên trang 9.
- Đọc hướng dẫn về xử lý RNA (Phụ lục A, trang 71).
- Đảm bảo rằng các dụng cụ, chẳng hạn như pipet và máy hấp lắ-ủ, đã được kiểm tra và hiệu chỉnh thường xuyên theo khuyến cáo của nhà sản xuất.
- Cần có máy hấp lắ-ủ trong bước 5 và 20. Đặt nhiệt độ của máy hấp lắ-ủ ở 55°C.



- Chất đệm liên kết (BR2) có thể tạo thành chất kết tủa khi bảo quản. Nếu cần, làm ấm đến nhiệt độ 37°C để hòa tan.
- Chất đệm rửa 2 (BR4) được cung cấp dưới dạng cô đặc. Trước khi sử dụng lần đầu tiên, thêm 4 thể tích ethanol (96–100%, độ tinh khiết p.a.), như được chỉ định trên chai, để thu được dung dịch làm việc.
- Nếu sử dụng Bộ DNase Không có RNase lần đầu tiên, hãy chuẩn bị dung dịch gốc DNase I. Hòa tan DNase I rắn (RNFD; 1500 đơn vị Kunitz)\* trong 550  $\mu$ l chất đệm tái huyền phù DNase (DRB) được cung cấp kèm theo bộ này. Cẩn thận để không bị mất DNase I (RNFD) khi mở lọ. Không xoay DNase I (RNFD) đã hoàn nguyên. DNase I đặc biệt nhạy cảm với biến chất vật lý. Việc trộn chỉ nên được thực hiện bằng cách nhẹ nhàng đảo ngược lọ.
- Dữ liệu hiện tại cho thấy rằng DNase I (RNFD) đã hoàn nguyên có thể được bảo quản ở nhiệt độ 2–8°C trong tối đa 6 tuần. Để bảo quản lâu dài DNase I (RNFD), lấy dung dịch gốc ra khỏi lọ thủy tinh, chia thành các phần sử dụng một lần (sử dụng ống ly tâm nhỏ [MCT] 1,5 ml được cung cấp kèm theo bộ dụng cụ; có đủ cho 5 phần) và bảo quản ở nhiệt độ –20°C trong tối đa 9 tháng. Phần đã rã đông có thể được bảo quản ở nhiệt độ 2–8°C trong tối đa 6 tuần. Không đông lạnh lại các phần sau khi rã đông.
- Khi hoàn nguyên và phân chia DNase I (RNFD), hãy đảm bảo rằng bạn tuân theo các hướng dẫn xử lý RNA (Phụ lục A, trang 71).

\* Đơn vị Kunitz là đơn vị thường được sử dụng để đo DNase I, được định nghĩa là lượng DNase I làm tăng  $A_{260}$  0,001 mỗi phút mỗi mililit ở 25°C, pH 5,0, với DNA được polyme hóa cao làm chất nền (Kunitz, M. (1950) J. Gen. Physiol. **33**, 349 và 363).

## Quy trình

1. Ly tâm PAXgene Blood RNA Tube (BRT) trong 10 phút ở 3000–5000 x g bằng cách sử dụng rôto xoay.



Đảm bảo rằng mẫu máu đã được ủ trong PAXgene Blood RNA Tube (BRT) trong tối thiểu 2 giờ ở nhiệt độ phòng (15–25°C) để phân giải hoàn toàn các tế bào máu.



Rôto phải chứa bộ tiếp hợp ống cho các ống đáy tròn. Nếu sử dụng các loại bộ tiếp hợp ống khác, các ống có thể bị vỡ trong quá trình ly tâm.

2. Loại bỏ chất nổi trên bề mặt bằng cách gạn lọc hoặc hút. Thêm 4 ml Nước Không có RNase (RNFW) vào viên nén và đóng ống bằng cách sử dụng vỏ BD Hemogard phụ mới (đi kèm bộ dụng cụ).

Nếu chất nổi trên bề mặt được gạn, hãy cẩn thận không làm xáo trộn viên nén và lau khô viền ống bằng khăn giấy sạch.

3. Xoáy cho đến khi viên nén được hòa tan rõ ràng và ly tâm trong 10 phút ở 3000–5000 x g bằng rôto xoay. Loại bỏ và thải bỏ toàn bộ chất nổi trên bề mặt.

Các mảnh vụn nhỏ còn lại trong chất nổi trên bề mặt sau khi xoáy nhưng trước khi ly tâm sẽ không ảnh hưởng đến quy trình.



Việc loại bỏ không hoàn toàn chất nổi trên bề mặt sẽ ức chế quá trình phân giải và pha loãng chất phân giải, do đó ảnh hưởng đến điều kiện liên kết RNA với màng PAXgene.

4. Thêm 350 µl chất đệm tái huyền phù (BR1) và xoáy cho đến khi viên nén tan hoàn toàn.

5. Hút mẫu vào ống ly tâm nhỏ (MCT) 1,5 ml. Thêm 300 µl chất đệm liên kết (BR2) và 40 µl proteinase K (PK). Trộn bằng cách xoáy trong 5 giây và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ 55°C bằng máy hấp lắ-ủ với tốc độ 400–1400 rpm. Sau khi ủ, đặt nhiệt độ của máy hấp lắ-ủ ở nhiệt độ 65°C (cho bước 20).



Không trộn chất đệm liên kết (BR2) và proteinase K (PK) với nhau trước khi thêm chúng vào mẫu.

6. Hút chất phân giải trực tiếp vào cột quay PAXgene Shredder (PSC; màu tím hoa cà) được đặt trong ống xử lý (PT) 2 ml và ly tâm trong 3 phút ở tốc độ tối đa (nhưng không vượt quá 20.000 x g).



Cẩn thận hút chất phân giải vào cột quay (PSC) và kiểm tra bằng mắt thường để đảm bảo rằng chất phân giải đã được chuyển hoàn toàn sang cột quay (PSC).

Để tránh làm hỏng cột (PSC) và ống (PT), không được vượt quá 20.000 x g.



Một số mẫu có thể chảy qua cột quay PAXgene Shredder (PSC) mà không cần ly tâm. Điều này là do một số mẫu có độ nhớt thấp và không nên được coi là dấu hiệu của lỗi sản phẩm.

7. Cẩn thận chuyển toàn bộ chất nổi trên bề mặt của phần chảy qua vào ống ly tâm nhỏ (MCT) 1,5 ml mới mà không làm xáo trộn viên nén trong ống xử lý.

8. Thêm 350 µl ethanol (96–100%, độ tinh khiết p.a.). Trộn bằng cách xoay và ly tâm trong thời gian ngắn (1–2 giây ở 500–1000 x g) để loại bỏ các giọt khô bên trong nắp ống.



Thời gian ly tâm không được vượt quá 1–2 giây, vì điều này có thể dẫn đến việc tạo thành các viên nén axit nucleic và giảm sản lượng RNA toàn phần.

9. Hút 700 µl mẫu vào cột quay PAXgene RNA (PRC; màu đỏ) được đặt trong ống xử lý (PT) 2 ml và ly tâm trong 1 phút ở 8000–20.000 x g. Đặt cột quay (PRC) vào ống xử lý (PT) 2 ml mới và thải bỏ ống xử lý (PT) cũ có chứa phần chảy qua.

10. Hút mẫu còn lại vào cột quay PAXgene RNA (PRC) và ly tâm trong 1 phút ở 8000–20.000 x g. Đặt cột quay (PRC) vào ống xử lý (PT) 2 ml mới và thải bỏ ống xử lý (PT) cũ có chứa phần chảy qua.



Cẩn thận hút mẫu vào cột quay (PRC) và kiểm tra bằng mắt thường để đảm bảo rằng mẫu đã được chuyển hoàn toàn sang cột quay (PRC).

11. Hút 350 µl chất đệm rửa 1 (BR3) vào cột quay PAXgene RNA (PRC). Ly tâm trong 1 phút ở 8000–20.000 x g. Đặt cột quay (PRC) vào ống xử lý (PT) 2 ml mới và thải bỏ ống xử lý (PT) cũ có chứa phần chảy qua.

12. Thêm 10 µl dung dịch gốc DNase I (RNFD) vào 70 µl chất đệm phân hủy DNA (RDD) vào ống ly tâm nhỏ (MCT) 1,5 ml. Trộn bằng cách gõ nhẹ ống và ly tâm trong thời gian ngắn để thu chất lỏng còn sót lại ở thành ống.

Ví dụ, nếu xử lý 10 mẫu, hãy thêm 100 µl dung dịch gốc DNase I (RNFD) vào 700 µl chất đệm phân hủy DNA (RDD). Sử dụng các ống ly tâm nhỏ (MCT) 1,5 ml đi kèm với bộ dụng cụ.



DNase I đặc biệt nhạy cảm với biến chất vật lý. Việc trộn chỉ nên được thực hiện bằng cách gõ nhẹ ống. Không xoáy.

13. Hút hỗn hợp ủ DNase I (RNFD) (80 µl) trực tiếp lên màng cột quay PAXgene RNA (PRC) và đặt trên mặt bàn (20–30°C) trong 15 phút.



Đảm bảo rằng hỗn hợp ủ DNase I (RNFD) được đặt trực tiếp lên màng. Quá trình phân hủy DNase sẽ không hoàn thành nếu một phần hỗn hợp được sử dụng và vẫn còn trên thành hoặc vòng chữ O của cột quay (PRC).

14. Hút 350 µl chất đệm rửa 1 (BR3) vào cột quay PAXgene RNA (PRC) và ly tâm trong 1 phút ở 8000–20.000 x g. Đặt cột quay (PRC) vào ống xử lý (PT) 2 ml mới và thải bỏ ống xử lý (PT) cũ có chứa phần chảy qua.

15. Hút 500 µl chất đệm rửa 2 (BR4) vào cột quay PAXgene RNA (PRC) và ly tâm trong 1 phút ở 8000–20.000 x g. Đặt cột quay (PRC) vào ống xử lý (PT) 2 ml mới và thải bỏ ống xử lý (PT) cũ có chứa phần chảy qua.



Chất đệm rửa 2 (BR4) được cung cấp dưới dạng cô đặc. Đảm bảo rằng ethanol được thêm vào chất đệm rửa 2 (BR4) trước khi sử dụng (xem “Những việc cần làm trước khi bắt đầu”, trang 56).

16. Thêm 500 µl chất đệm rửa 2 (BR4) nữa vào cột quay PAXgene RNA (PRC). Ly tâm trong 3 phút ở 8000–20.000 x g.

17. Thải bỏ ống xử lý (PT) có chứa phần chảy qua và đặt cột quay PAXgene RNA (PRC) vào ống xử lý (PT) 2 ml mới. Ly tâm trong 1 phút ở 8000–20.000 x g.

18. Thái bỏ ống xử lý (PT) có chứa phần chảy qua. Đặt cột quay PAXgene RNA (PRC) vào ống ly tâm nhỏ (MCT) 1,5 ml và hút 40 µl chất đệm rửa giải (BR5) trực tiếp lên màng cột quay PAXgene RNA (PRC). Ly tâm trong 1 phút ở 8000–20.000 x g để rửa giải RNA. Điều quan trọng là phải làm ướt toàn bộ màng bằng chất đệm rửa giải (BR5) để đạt được hiệu quả rửa giải tối đa.

19. Lặp lại bước rửa giải (bước 18) như đã mô tả, sử dụng 40 µl chất đệm rửa giải (BR5) và cùng một ống ly tâm nhỏ (MCT).

20. Ủ chất rửa giải trong 5 phút ở nhiệt độ 65°C trong máy hấp lác-ủ (từ bước 5) mà không lác. Sau khi ủ, làm lạnh bằng đá ngay lập tức.

Quá trình ủ ở nhiệt độ 65°C này làm biến chất RNA cho các ứng dụng cùng hướng. Không vượt quá thời gian hoặc nhiệt độ ủ.

21. Nếu mẫu RNA không được sử dụng ngay, hãy bảo quản ở nhiệt độ –20°C hoặc –70°C.

Vì RNA vẫn bị biến chất sau nhiều lần đông lạnh và rã đông, nên không cần lặp lại quá trình ủ ở nhiệt độ 65°C. Nếu sử dụng các mẫu RNA trong xét nghiệm chẩn đoán, hãy làm theo hướng dẫn do nhà sản xuất cung cấp.

Để định lượng chính xác RNA bằng hấp thụ ở 260 nm, chúng tôi khuyên bạn nên pha loãng mẫu với 10 mM Tris-HCl, pH 7,5.\* Pha loãng mẫu trong Nước Không có RNase có thể dẫn đến các giá trị thấp không chính xác.

Đưa máy đo quang phổ về không bằng cách sử dụng dung dịch trắng bao gồm chất đệm rửa giải (BR5) và chất đệm Tris-HCl có tỷ lệ tương tự như trong các mẫu cần đo. Chất đệm rửa giải (BR5) có độ hấp thụ cao ở 220 nm, có thể dẫn đến mức độ hấp thụ nền cao nếu máy đo quang phổ không được đưa về không đúng cách.



Để định lượng trong chất đệm Tris HCl, hãy sử dụng mối quan hệ  
 $A_{260} = 1 \Rightarrow 44 \mu\text{g/ml}$ . Xem Phụ lục B, trang 72.

\* Khi làm việc với hóa chất, luôn mang áo choàng phòng thí nghiệm, găng tay dùng một lần và kính bảo hộ phù hợp. Để biết thêm thông tin, hãy tham khảo bảng chỉ dẫn an toàn (safety data sheet, SDS) thích hợp, có sẵn từ nhà cung cấp sản phẩm.

# Giao thức: Lọc Tự động RNA Toàn phần từ Máu Toàn phần ở Người được Thu vào PAXgene Blood RNA Tube (BRT)

Những điểm quan trọng trước khi bắt đầu

- Đảm bảo rằng hộp bộ dụng cụ còn nguyên vẹn và không bị hỏng và các chất đệm không bị rò rỉ. Không sử dụng bộ dụng cụ bị hỏng.
- Khi sử dụng pipet, hãy đảm bảo rằng pipet được đặt ở đúng thể tích và chất lỏng được hút và phân phát cẩn thận và hoàn toàn.
- Để tránh chuyển mẫu sang sai ống và vật tư tiêu hao bằng nhựa, hãy đảm bảo rằng tất cả các ống xử lý (PT), ống ly tâm nhỏ (MCT) và bộ tiếp hợp rôto được ghi nhãn thích hợp bằng bút không phai. Ghi nhãn trên nắp và thân mỗi ống ly tâm nhỏ (MCT), thân mỗi ống xử lý (PT) và thành ngoài mỗi bộ tiếp hợp rôto.
- Việc rơi vãi mẫu và chất đệm trong quá trình này có thể làm giảm năng suất và độ tinh khiết của RNA.
- Trừ khi có chỉ định khác, tất cả các bước của giao thức này, bao gồm cả các bước ly tâm, phải được thực hiện ở nhiệt độ phòng (15–25°C).

Do độ nhạy của công nghệ khuếch đại axit nucleic, các biện pháp phòng ngừa sau là cần thiết khi xử lý mẫu để tránh nhiễm bẩn chéo:

- Cẩn thận hút mẫu vào ống xử lý (PT), vào đáy ống mà không làm ướt viền ống.
- Luôn thay đầu tip pipet giữa các lần chuyển chất lỏng. Sử dụng các đầu tip pipet có tấm chắn sol khí.
- Tránh chạm màng cột quay (PRC, PSC) bằng đầu tip pipet.

- Sau khi xoáy hoặc làm nóng ống ly tâm nhỏ (MCT), ly tâm nhanh để loại bỏ các giọt từ bên trong nắp.
- Mang găng tay trong suốt quy trình. Trong trường hợp găng tay tiếp xúc với mẫu, hãy thay găng tay ngay lập tức.

### Những việc cần làm trước khi bắt đầu

- Máu phải được thu trong PAXgene Blood RNA Tube (BRT) theo hướng dẫn trong Sổ tay *PAXgene Blood RNA Tube*. Nếu cần, hãy xem Phụ lục C (trang 74) để biết các khuyến cáo về việc xử lý PAXgene Blood RNA Tube (BRT).
- Đảm bảo rằng PAXgene Blood RNA Tube (BRT) được ủ ít nhất 2 giờ ở nhiệt độ phòng sau khi lấy máu để đảm bảo quá trình phân giải hoàn toàn các tế bào máu. Việc ủ PAXgene Blood RNA Tube (BRT) qua đêm có thể làm tăng năng suất. Nếu PAXgene Blood RNA Tube (BRT) được bảo quản ở nhiệt độ 2–8°C, –20°C hoặc –70°C sau khi lấy máu, trước tiên hãy cân bằng ống về nhiệt độ phòng và sau đó bảo quản ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ trước khi bắt đầu quy trình.
- Đọc thông tin an toàn trên trang 9.
- Đọc “Lưu ý Quan trọng”, trang 41.
- Đọc hướng dẫn về xử lý RNA (Phụ lục A, trang 71).
- Đọc Hướng dẫn Sử dụng dụng cụ QIAcube thích hợp và bất kỳ thông tin bổ sung nào được cung cấp cùng với dụng cụ QIAcube, chú ý kỹ phần thông tin an toàn.
- Đảm bảo rằng các thiết bị và dụng cụ, chẳng hạn như pipet và dụng cụ QIAcube, đã được kiểm tra và hiệu chỉnh thường xuyên theo khuyến cáo của nhà sản xuất.
- Chất đệm liên kết (BR2) có thể tạo thành chất kết tủa khi bảo quản. Nếu cần, làm ấm đến nhiệt độ 37°C để hòa tan.
- Chất đệm rửa 2 (BR4) được cung cấp dưới dạng cô đặc. Trước khi sử dụng lần đầu tiên, thêm thể tích ethanol thích hợp (96–100%, độ tinh khiết p.a.) như được chỉ định trên chai để thu được dung dịch làm việc.

- Nếu sử dụng Bộ DNase Không có RNase lần đầu tiên, hãy chuẩn bị dung dịch gốc DNase I. Hòa tan DNase I rắn (RNFD; 1500 đơn vị Kunitz)\* trong 550 µl chất đệm tái huyền phù DNase (DRB) được cung cấp kèm theo bộ này. Cẩn thận để không bị mất DNase I (RNFD) khi mở lọ. Không xoay DNase I (RNFD) đã hoàn nguyên. DNase I đặc biệt nhạy cảm với biến chất vật lý. Việc trộn chỉ nên được thực hiện bằng cách nhẹ nhàng đảo ngược lọ.
- Dữ liệu hiện tại cho thấy rằng DNase I (RNFD) đã hoàn nguyên có thể được bảo quản ở nhiệt độ 2–8°C trong tối đa 6 tuần. Để bảo quản lâu dài DNase I (RNFD), lấy dung dịch gốc ra khỏi lọ thủy tinh, chia thành các phần sử dụng một lần (sử dụng ống ly tâm nhỏ [MCT] 1,5 ml được cung cấp kèm theo bộ dụng cụ; có đủ cho 5 phần) và bảo quản ở nhiệt độ –20°C trong tối đa 9 tháng. Phần đã rã đông có thể được bảo quản ở nhiệt độ 2–8°C trong tối đa 6 tuần. Không đông lạnh lại các phần sau khi rã đông.
- Khi hoàn nguyên và phân chia DNase I (RNFD), hãy đảm bảo rằng bạn tuân theo các hướng dẫn xử lý RNA (Phụ lục A, trang 71).
- Lắp đặt đúng bộ tiếp hợp máy hấp lắ (đi kèm với dụng cụ QIAcube; sử dụng bộ tiếp hợp cho ống khóa an toàn 2 ml, được đánh dấu bằng “2”) và đặt giá đỡ máy hấp lắ lên trên bộ tiếp hợp.
- Kiểm tra ngăn kéo chất thải và làm rỗng nếu cần.
- Cài đặt bất kỳ giao thức liên quan nào nếu chưa cài đặt cho các lần chạy trước. QIAcube Connect MDx yêu cầu tải xuống tất cả các giao thức có trong tệp zip liên quan. Đối với QIAcube cổ điển, cài đặt cả giao thức “PAXgene Blood RNA Part A” (PAXgene Blood RNA Phần A) và “PAXgene Blood RNA Part B” (PAXgene Blood RNA Phần B). Xem “Cài đặt giao thức trên dụng cụ QIAcube”, trang 44.

\* Đơn vị Kunitz là đơn vị thường được sử dụng để đo DNase I, được định nghĩa là lượng DNase I làm tăng  $A_{260}$  0,001 mỗi phút mỗi mililit ở 25°C, pH 5,0, với DNA được polyme hóa cao làm chất nền (Kunitz, M. (1950) J. Gen. Physiol. **33**, 349 và 363).



## Quy trình

1. Đóng nắp dụng cụ QIAcube và bật dụng cụ QIAcube bằng công tắc nguồn (QIAcube Connect MDx: xem Hình 17, trang 42; QIAcube: xem Hình 18, trang 43).

Tiếng bíp phát ra và màn hình khởi động xuất hiện. Các dụng cụ tự động thực hiện các thử nghiệm khởi tạo.

2. Mở nắp dụng cụ QIAcube và nạp thuốc thử và bộ phận bằng nhựa cần thiết vào dụng cụ QIAcube. Xem “Nạp các dụng cụ QIAcube”, trang 45.

Để tiết kiệm thời gian, có thể thực hiện nạp trong một hoặc cả hai bước ly tâm kéo dài 10 phút (bước 3 và 5) sau đây.

3. Ly tâm PAXgene Blood RNA Tube (BRT) trong 10 phút ở 3000–5000 x g bằng cách sử dụng rôto xoay.



Đảm bảo rằng mẫu máu đã được ủ trong PAXgene Blood RNA Tube (BRT) trong tối thiểu 2 giờ ở nhiệt độ phòng (15–25°C) để phân giải hoàn toàn các tế bào máu.



Rôto phải chứa bộ tiếp hợp ống cho các ống đáy tròn. Nếu sử dụng các loại bộ tiếp hợp ống khác, các ống có thể bị vỡ trong quá trình ly tâm.

4. Loại bỏ chất nổi trên bề mặt bằng cách gạn lọc hoặc hút. Thêm 4 ml Nước Không có RNase (RNFW) vào viên nén và đóng ống bằng cách sử dụng vỏ BD Hemogard phụ mới (đi kèm bộ dụng cụ).

Nếu chất nổi trên bề mặt được gạn, hãy cẩn thận không làm xáo trộn viên nén và lau khô viền ống bằng khăn giấy sạch.

5. Xoáy cho đến khi viên nén được hòa tan rõ ràng và ly tâm trong 10 phút ở 3000–5000 x g bằng rôto xoay. Loại bỏ và thải bỏ toàn bộ chất nổi trên bề mặt.

Các mảnh vụn nhỏ còn lại trong chất nổi trên bề mặt sau khi xoáy nhưng trước khi ly tâm sẽ không ảnh hưởng đến quy trình.



Việc loại bỏ không hoàn toàn chất nổi trên bề mặt sẽ ức chế quá trình phân giải và pha loãng chất phân giải, do đó ảnh hưởng đến điều kiện liên kết RNA với màng PAXgene.

6. Thêm 350 µl chất đệm tái huyền phù (BR1) và xoay cho đến khi viên nén tan hoàn toàn.

7. Hút mẫu vào ống xử lý (PT) 2 ml.



Sử dụng các ống xử lý (PT) 2 ml có trong PAXgene Blood RNA Kit.

8. Nạp các ống xử lý (PT) mở chứa mẫu vào máy hấp lắc dụng cụ QIAcube (QIAcube Connect MDx: xem Hình 21, trang 47; QIAcube: xem Hình 22, trang 48). Các vị trí mẫu được đánh số để tiện cho việc nạp. Cắm phích cắm giá đỡ máy hấp lắc (đi kèm với dụng cụ QIAcube) vào các khe ở mép giá đỡ máy hấp lắc bên cạnh mỗi ống xử lý.

Điều này cho phép phát hiện các mẫu trong quá trình kiểm tra nạp.



Đảm bảo rằng bộ tiếp hợp máy hấp lắc phù hợp (Shaker Adapter, 2 ml, ống khóa an toàn, được đánh dấu bằng “2”, đi kèm với dụng cụ QIAcube) được lắp đặt.



Nếu xử lý ít hơn 12 mẫu, hãy đảm bảo nạp giá đỡ máy hấp lắc như trình bày trong Hình 26, trang 52. Không thể xử lý một (1) hoặc 11 mẫu. Số vị trí trong giá đỡ máy hấp lắc tương ứng với số vị trí trong máy ly tâm.

9. Đóng nắp dụng cụ QIAcube (QIAcube Connect MDx: xem Hình 17, trang 42; QIAcube: xem Hình 18, trang 43).

10. Chọn giao thức “PAXgene Blood RNA Phần A” và bắt đầu giao thức.

Làm theo hướng dẫn được đưa ra trên màn hình cảm ứng của dụng cụ QIAcube.



Đảm bảo rằng cả hai phần chương trình (phần A và phần B) đều được cài đặt trên dụng cụ QIAcube (xem “Cài đặt giao thức trên dụng cụ QIAcube”, trang 44).



Dụng cụ QIAcube sẽ thực hiện kiểm tra nạp đối với mẫu, đầu tip, bộ tiếp hợp rôto và chai thuốc thử.

11. Sau khi hoàn tất giao thức “PAXgene Blood RNA Part A” (PAXgene Blood RNA Phần A), hãy mở nắp dụng cụ QIAcube (QIAcube Connect MDx: xem Hình 17, trang 42; QIAcube: xem Hình 18, trang 43). Tháo và loại bỏ các cột quay PAXgene RNA (PRC) khỏi bộ tiếp hợp rôto và các ống xử lý (PT) trống khỏi máy hấp lắc.



Trong quá trình chạy, các cột quay được chuyển từ vị trí bộ tiếp hợp rôto 1 (vị trí nắp L1) sang vị trí bộ tiếp hợp rôto 3 (vị trí nắp L2) bằng dụng cụ (xem Hình 24, trang 50).

- Đóng nắp của tất cả các ống ly tâm nhỏ (MCT) 1,5 ml có chứa RNA đã lọc trong bộ tiếp hợp rôto (vị trí 3, vị trí nắp L3, xem Hình 24, trang 50). Chuyển các ống ly tâm nhỏ (MCT) 1,5 ml sang bộ tiếp hợp rôto dụng cụ QIAcube (QIAcube Connect MDx: xem Hình 21, trang 47; QIAcube: xem Hình 22, trang 48).
- Đóng nắp dụng cụ QIAcube (QIAcube Connect MDx: xem Hình 17, trang 42; QIAcube: xem Hình 18, trang 43).
- Chọn giao thức “PAXgene Blood RNA Part B” (PAXgene Blood RNA Phần B) và bắt đầu giao thức.

Làm theo hướng dẫn được đưa ra trên màn hình cảm ứng của dụng cụ QIAcube.



Chương trình này ủ mẫu ở nhiệt độ 65°C và làm biến chất RNA cho các ứng dụng cùng hướng. Ngay cả khi ứng dụng cùng hướng bao gồm bước biến chất nhiệt, không được bỏ qua bước này. Biến chất RNA đầy đủ là cần thiết để đạt hiệu quả tối đa trong các ứng dụng cùng hướng.

- Sau khi hoàn tất chương trình “PAXgene Blood RNA Part B” (PAXgene Blood RNA Phần B), hãy mở nắp dụng cụ (QIAcube Connect MDx: xem Hình 17, trang 42; QIAcube: xem Hình 18, trang 43). Đặt ngay các ống ly tâm nhỏ (MCT) có chứa RNA đã lọc lên đá.



**CẢNH BÁO:** Bề mặt nóng. Máy hấp lắc có thể đạt nhiệt độ tối đa 70°C (158°F). Tránh chạm vào máy khi còn nóng.



Không để RNA đã lọc sót lại trong dụng cụ QIAcube. Vì các mẫu không được làm lạnh, RNA đã lọc có thể bị suy biến. Do đó, không nên chạy chuẩn bị mẫu qua đêm không có người giám sát.

16. Nếu mẫu RNA không được sử dụng ngay, hãy bảo quản ở nhiệt độ  $-20^{\circ}\text{C}$  hoặc  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Vì RNA vẫn bị biến chất sau nhiều lần đông lạnh và rã đông, không cần lặp lại quy trình ủ nhiệt (“PAXgene Blood RNA Part B” (PAXgene Blood RNA Phần B)). Nếu sử dụng các mẫu RNA trong xét nghiệm chẩn đoán, hãy làm theo hướng dẫn do nhà sản xuất cung cấp.

Để định lượng chính xác RNA bằng hấp thụ ở 260 nm, chúng tôi khuyên bạn nên pha loãng mẫu trong 10 mM Tris-HCl, pH 7,5. \* Pha loãng mẫu trong Nước Không có RNase có thể dẫn đến các giá trị thấp không chính xác.

Đưa máy đo quang phổ về không bằng cách sử dụng dung dịch trắng bao gồm chất đệm rửa giải (BR5) và chất đệm Tris-HCl có tỷ lệ tương tự như trong các mẫu cần đo. Chất đệm rửa giải (BR5) có độ hấp thụ cao ở 220 nm, có thể dẫn đến mức độ hấp thụ nền cao nếu máy đo quang phổ không được đưa về không đúng cách.



Để định lượng trong chất đệm Tris - HCl, hãy sử dụng mối quan hệ

$A_{260} = 1 \Rightarrow 44 \mu\text{g/ml}$ . Xem Phụ lục B, trang 72.

17. Tháo giá đỡ chai thuốc thử khỏi bàn làm việc của dụng cụ QIAcube (QIAcube Connect MDx: xem Hình 21, trang 47; QIAcube: xem Hình 22, trang 48) và đóng tất cả các chai bằng các nắp có nhãn thích hợp. Chất đệm trong chai có thể được bảo quản ở nhiệt độ phòng ( $15-25^{\circ}\text{C}$ ) trong tối đa 3 tháng. Loại bỏ và thải bỏ thuốc thử còn lại trong các ống xử lý (PT) trong các khe ống ly tâm nhỏ của dụng cụ QIAcube. Tháo và thải bỏ bộ tiếp hợp rôto khỏi máy ly tâm. Làm sạch ngăn kéo chất thải của QIAcube Connect MDx (QIAcube Connect MDx: xem Hình 17, trang 42; QIAcube: xem Hình 18, trang 43).

Đóng nắp dụng cụ QIAcube và tắt dụng cụ bằng công tắc nguồn.

\* Khi làm việc với hóa chất, luôn mang áo choàng phòng thí nghiệm, găng tay dùng một lần và kính bảo hộ phù hợp. Để biết thêm thông tin, hãy tham khảo bảng chỉ dẫn an toàn (safety data sheet, SDS) thích hợp, có sẵn từ nhà cung cấp sản phẩm.

# Hướng dẫn Xử lý Sự cố

Hướng dẫn xử lý sự cố này có thể hữu ích trong việc giải quyết bất kỳ vấn đề nào có thể phát sinh. Để biết thêm thông tin, xem trang Câu hỏi Thường gặp tại Trung tâm Hỗ trợ Kỹ thuật của chúng tôi: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Các nhà khoa học thuộc bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN luôn sẵn lòng trả lời bất kỳ câu hỏi nào của bạn về thông tin và giao thức trong sổ tay này hoặc các công nghệ mẫu và xét nghiệm (để biết thông tin liên hệ, xem trang cuối hoặc truy cập [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Nhận xét và gợi ý

---

### RNA bị suy biến

Nhiễm bản RNase



Cẩn thận không đưa bất kỳ RNase nào vào thuốc thử trong quy trình hoặc quy trình xử lý sau này (xem Phụ lục A, trang 71).

### Năng suất RNA thấp

a) Ít hơn 2,5 ml máu được thu trong PAXgene Blood RNA Tube (BRT)



Đảm bảo rằng 2,5 ml máu được thu trong PAXgene Blood RNA Tube (BRT; xem Sổ tay *PAXgene Blood RNA Tube*).

b) Nồng độ RNA đo được trong nước



RNA phải được pha loãng trong 10 mM Tris-HCl, pH 7,5\* để định lượng chính xác (xem Phụ lục B, trang 72).



c) Các mảnh vụn tế bào được chuyển đến cột quay PAXgene RNA (PRC) trong các bước 9 và 10 của giao thức thủ công





Tránh chuyển các hạt lớn khi hút chất nổi trên bề mặt ở bước 7 của giao thức thủ công (việc chuyển các mảnh vụn nhỏ sẽ không ảnh hưởng đến quy trình).

\* Khi làm việc với hóa chất, luôn mang áo choàng phòng thí nghiệm, găng tay dùng một lần và kính bảo hộ phù hợp. Để biết thêm thông tin, hãy tham khảo bảng chỉ dẫn an toàn (safety data sheet, SDS) thích hợp, có sẵn từ nhà cung cấp sản phẩm.

## Nhận xét và gợi ý

- d) Chất nổi trên bề mặt không được loại bỏ hoàn toàn ở bước 3  Đảm bảo toàn bộ chất nổi trên bề mặt được loại bỏ. Nếu chất nổi trên bề mặt đã được gạn bớt, hãy loại bỏ các giọt khỏi viền của PAXgene Blood RNA Tube (BRT) bằng cách chấm lên khăn giấy. Thực hiện các biện pháp phòng ngừa thích hợp để ngăn ngừa nhiễm bẩn chéo.
- e) Sau khi được thu vào PAXgene Blood RNA Tube (BRT), máu được ủ trong ít hơn 2 giờ  Ủ máu trong PAXgene Blood RNA Tube (BRT) trong ít nhất 2 giờ sau khi thu.

### Giá trị $A_{260}/A_{280}$ thấp

- a) Nước được sử dụng để pha loãng RNA để đo  $A_{260}/A_{280}$   Sử dụng 10 mM Tris-HCl, pH 7,5 để pha loãng RNA trước khi đo độ tinh khiết\* (xem Phụ lục B, trang 72).
- b) Máy đo quang phổ không được đưa về không đúng cách  Đưa máy đo quang phổ về không bằng cách sử dụng dung dịch tráng bao gồm chất đệm rửa giải (BR5) và 10 mM Tris-HCl, pH 7,5 có tỷ lệ tương tự như trong các mẫu cần đo. Chất đệm rửa giải (BR5) có độ hấp thụ cao ở 220 nm, có thể dẫn đến mức độ hấp thụ nền cao nếu máy đo quang phổ không được đưa về không đúng cách.

### Lỗi dụng cụ

Các dụng cụ QIAcube không hoạt động bình thường

Đọc hướng dẫn sử dụng QIAcube thích hợp, chú ý đến phần Xử lý sự cố. Đảm bảo rằng các dụng cụ QIAcube được bảo trì đúng cách, như được mô tả trong hướng dẫn sử dụng.

\* 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.

# Phụ lục A: Nhận xét Chung về Xử lý RNA

## Xử lý RNA



Ribonuclease (RNase) là enzym hoạt động và rất ổn định, thường không yêu cầu đồng yếu tố để hoạt động. Vì RNase rất khó bị bất hoạt và ngay cả một vài phút cũng đủ để suy biến RNA, không sử dụng bất kỳ dụng cụ bằng nhựa hoặc thủy tinh nào mà không loại bỏ khả năng nhiễm RNase trước. Cần hết sức cẩn thận để tránh vô tình đưa RNase vào mẫu RNA trong hoặc sau quy trình lọc. Để tạo và duy trì môi trường không có RNase, phải thực hiện các biện pháp phòng ngừa trong quá trình tiền xử lý và sử dụng các vật chứa và dung dịch dùng một lần và không dùng một lần trong khi làm việc với RNA.

## Xử lý chung



Luôn sử dụng kỹ thuật vô trùng, vi sinh thích hợp khi làm việc với RNA. Tay và các hạt bụi mang theo vi khuẩn và nấm mốc và là những nguồn nhiễm bản RNase phổ biến nhất. Luôn đeo găng tay cao su hoặc nhựa vinyl trong khi xử lý thuốc thử và mẫu RNA để tránh nhiễm bản RNase từ bề mặt da hoặc từ thiết bị thí nghiệm có bụi. Thay găng tay thường xuyên và đậy kín ống bất cứ khi nào có thể. Giữ RNA đã lọc trên đá khi các phần được hút cho các ứng dụng cùng hướng.

Các giao thức loại bỏ nhiễm bản RNase khỏi dụng cụ thủy tinh và dung dịch có thể được tìm thấy trong các hướng dẫn sinh học phân tử chung, chẳng hạn như Sambrook, J. and Russell, D. W. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

# Phụ lục B: Định lượng và Xác định Chất lượng RNA Toàn phần

## Định lượng RNA

Nồng độ RNA phải được xác định bằng cách đo độ hấp thụ ở 260 nm ( $A_{260}$ ) trong máy đo quang phổ. Để đảm bảo ý nghĩa, các chỉ số phải nằm trong phạm vi tuyến tính của máy đo quang phổ. Độ hấp thụ của 1 đơn vị tại 260 nm tương ứng với 44  $\mu\text{g}$  RNA một ml ( $A_{260} = 1 \Rightarrow 44 \mu\text{g/ml}$ ). Mỗi quan hệ này chỉ có giá trị đối với các phép đo trong 10 mM Tris-HCl, pH 7,5\*. Do đó, nếu cần phải pha loãng mẫu RNA và điều này phải được thực hiện trong 10 mM Tris-HCl. Như thảo luận bên dưới (xem “Độ tinh khiết của RNA”, trang 73), tỷ lệ giữa các giá trị độ hấp thụ ở 260 và 280 nm cho phép ước tính độ tinh khiết của RNA. Khi đo mẫu RNA, hãy chắc chắn rằng cuvet không có RNase. Đưa máy đo quang phổ về không bằng cách sử dụng dung dịch trắng bao gồm chất đệm rửa giải (BR5) và chất đệm Tris-HCl có tỷ lệ tương tự như trong các mẫu cần đo. Chất đệm rửa giải (BR5) có độ hấp thụ cao ở 220 nm, có thể dẫn đến mức độ hấp thụ nền cao nếu máy đo quang phổ không được đưa về không đúng cách. Dưới đây là một ví dụ phép tính liên quan đến định lượng RNA.

Thể tích của mẫu RNA	=	80 $\mu\text{l}$
Pha loãng (1/15)	=	10 $\mu\text{l}$ mẫu RNA + 140 $\mu\text{l}$ 10 mM Tris-HCl, pH 7,5
Đo độ hấp thụ của mẫu đã pha loãng trong cuvet (không có RNase).		
$A_{260}$	=	0,3
Nồng độ của mẫu	=	44 x $A_{260}$ x hệ số pha loãng
	=	44 x 0,3 x 15
	=	198 $\mu\text{g/ml}$
Tổng năng suất	=	nồng độ x thể tích mẫu tính bằng millilit
	=	198 $\mu\text{g/ml}$ x 0,08 ml
	=	15,8 $\mu\text{g}$ RNA

\* Khi làm việc với hóa chất, luôn mang áo choàng phòng thí nghiệm, găng tay dùng một lần và kính bảo hộ phù hợp. Để biết thêm thông tin, hãy tham khảo bảng chỉ dẫn an toàn (safety data sheet, SDS) thích hợp, có sẵn từ nhà cung cấp sản phẩm.



## Độ tinh khiết của RNA

Tỷ lệ của các chỉ số ở 260 nm và 280 nm ( $A_{260}/A_{280}$ ) cung cấp ước tính về độ tinh khiết của RNA đối với các chất gây ô nhiễm hấp thụ trong UV, chẳng hạn như protein. Tuy nhiên, tỷ lệ  $A_{260}/A_{280}$  bị ảnh hưởng đáng kể bởi pH. Độ pH thấp hơn dẫn đến tỷ lệ  $A_{260}/A_{280}$  thấp hơn và giảm độ nhạy với nhiễm bẩn protein.\* Để có giá trị chính xác, chúng tôi khuyên bạn nên đo độ hấp thụ trong 10 mM Tris-HCl, pH 7,5. RNA tinh khiết có tỷ lệ  $A_{260}/A_{280}$  là 1,8–2,2 trong 10 mM Tris-HCl, pH 7,5. Đưa máy đo quang phổ về không bằng cách sử dụng dung dịch trắng bao gồm chất đệm rửa giải (BR5) và chất đệm Tris-HCl có tỷ lệ tương tự như trong các mẫu cần đo. Chất đệm rửa giải (BR5) có độ hấp thụ cao ở 220 nm, có thể dẫn đến mức độ hấp thụ nền cao nếu máy đo quang phổ không được đưa về không đúng cách.

\* 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.

# Phụ lục C: Xử lý PAXgene Blood RNA Tube (BRT)



Các khuyến cáo sau đây của BD có thể hữu ích khi xử lý PAXgene Blood RNA Tube (BRT). Xem *Sổ tay PAXgene Blood RNA Tube* để biết thêm thông tin về PAXgene Blood RNA Tube (BRT).

## Hướng dẫn tháo Vỏ BD Hemogard

1. Giữ PAXgene Blood RNA Tube (BRT) bằng một tay, đặt ngón tay cái dưới vỏ BD Hemogard. (Để tăng độ ổn định, đặt cánh tay trên bề mặt rắn.) Tay kia xoay vỏ BD Hemogard trong khi đẩy lên bằng ngón tay cái của tay kia **CHO ĐẾN KHI NÚT ỐNG ĐƯỢC NÓI LÔNG**.
2. Thả ngón tay cái ra trước khi nâng vỏ lên. **KHÔNG** dùng ngón tay cái để ấn vỏ ra khỏi PAXgene Blood RNA Tube (BRT). **Thận trọng:** Nếu PAXgene Blood RNA Tube (BRT) chứa máu, sẽ có nguy cơ phơi nhiễm. Để giúp ngăn ngừa chấn thương trong quá trình tháo vỏ, điều quan trọng là dùng ngón tay cái để đẩy lên trên vỏ được tháo ra khỏi PAXgene Blood RNA Tube (BRT) ngay sau khi vỏ BD Hemogard được nói lỏng.
3. Nhấc vỏ ra khỏi PAXgene Blood RNA Tube (BRT). Trong trường hợp hiếm khi xảy ra là tấm chắn bằng nhựa rời ra khỏi nút cao su, **KHÔNG ĐƯỢC LẮP LẠI VỎ**. Cần thận trọng tháo nút cao su ra khỏi PAXgene Blood RNA Tube (BRT).

## Hướng dẫn lắp Vỏ BD Hemogard Phụ

1. Đặt vỏ trên PAXgene Blood RNA Tube (BRT).
2. Xoay và ấn mạnh xuống cho đến khi nút khớp hoàn toàn. Cần đẩy lại nút hoàn toàn để vỏ vẫn ở trên PAXgene Blood RNA Tube (BRT) một cách chắc chắn trong quá trình xử lý.

# Thông tin Đặt hàng

Sản phẩm	Thành phần	Số danh mục
PAXgene Blood RNA Kit (50)	50 Cột quay PAXgene, 50 Cột quay Shredder, Ống xử lý, DNase I Không có RNase, Thuốc thử và Chất đệm Không có RNase. Được sử dụng cùng với PAXgene Blood RNA Tube	762174
PAXgene Blood RNA Tubes (100)	100 ống lấy máu	762165
<b>Các Sản phẩm Liên quan có thể đặt hàng từ QIAGEN</b>		
Starter Pack, QIAcube	Gói bao gồm: giá đỡ chai thuốc thử (3); miếng ghi nhãn giá đỡ (8); đầu tip bộ lọc 200 µl (1024); đầu tip bộ lọc 1000 µl (1024); đầu tip bộ lọc 1000 µl, lỗ rộng (1024); chai thuốc thử 30 ml (18); bộ tiếp hợp rôto (240); giá đỡ bộ tiếp hợp rôto	990395
Filter-Tips, 1000 µl (1024)	Sterile, Disposable Filter-Tips, có giá đỡ	990352
Reagent Bottles, 30 ml (6)	Chai Thuốc thử (30 ml) có nắp; gói 6 chai; để sử dụng với giá đỡ chai thuốc thử dụng cụ QIAcube	990393
Rotor Adapters (10 x 24)	Cho 240 lần chuẩn bị: 240 Bộ tiếp hợp Rôto Dùng một lần; để sử dụng với các dụng cụ QIAcube	990394
Reagent Bottle Rack	Giá đỡ chứa 6 chai thuốc thử 30 ml trên bàn làm việc dụng cụ QIAcube	990390

Rotor Adapter Holder	Giá đỡ cho 12 bộ tiếp hợp rôto dùng một lần; để sử dụng với các dụng cụ QIAcube	990392
----------------------	---	--------

**Các sản phẩm liên quan có thể đặt hàng từ BD\***

Blood Collection Set	BD Vacutainer® Safety-Lok™ 6 Blood Collection Set: 21G, 0.75 inch (0.8 x 19 mm) needle, 12 inch (305 mm) tubing with luer adapter; 50 mỗi hộp, 200 mỗi ngăn	367286
BD Vacutainer One-Use Holder	Ngăn chỉ dành cho đường kính 13 mm và 16 mm; 1000/ngăn	364815
BD Vacutainer Plus Serum Tubes	13 x 75 mm 4.0 ml draw with red BD Hemogard closure và nhãn giấy; 100/hộp, 1000/ngăn	368975

\* Các phụ kiện lấy máu này đại diện cho các sản phẩm điển hình có thể được sử dụng với PAXgene Blood RNA Tube (BRT). Để tìm hiểu thêm về các phụ kiện này, kể cả cách đặt hàng, hãy truy cập [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com).

Để biết thông tin cập nhật về cấp phép và tuyên bố từ bỏ trách nhiệm cụ thể theo sản phẩm, xem sổ tay hoặc hướng dẫn sử dụng bộ dụng cụ PreAnalytiX hoặc QIAGEN tương ứng. Sổ tay và hướng dẫn sử dụng bộ dụng cụ PreAnalytiX và QIAGEN có sẵn tại [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com) và [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) hoặc có thể được yêu cầu từ bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật PreAnalytiX.

# Lịch sử Sửa đổi Sổ tay

Tài liệu và sửa đổi	Sửa đổi	Ngày
HB-0101-004, R2	Các thay đổi để tuân thủ các quy định của GHS trong toàn bộ tài liệu	Tháng 6 năm 2015
HB-0101-005, R3	Mẫu mới; sửa đổi giao thức tự động và dữ liệu hiệu suất; cập nhật Thông tin An toàn để tuân thủ các quy định của GHS; các thay đổi đối với chi tiết dụng cụ và tuyên bố Giới hạn Sử dụng Sản phẩm.	Tháng 2 năm 2019
HB-0101-006, R3	Sửa tên bộ dụng cụ trong bảng thành phần bộ dụng cụ trang 5.	Tháng 1 năm 2020
HB-0101-007, R4	Đã thêm QIAcube Connect MDx vào giao thức tự động; đã cập nhật ngôn ngữ để bao gồm các tham chiếu đến QIAcube Connect MDx; đã cập nhật số bảng, trang và hình.	Tháng 12 năm 2020

## PreAnalytiX Toàn cầu

Các sản phẩm của PreAnalytiX do QIAGEN và các công ty BD phân phối

### QIAGEN – Dịch vụ Khách hàng

Đặt hàng [www.QIAGEN.com/shop](http://www.QIAGEN.com/shop) | Hỗ trợ Kỹ thuật [support.qiagen.com](mailto:support.qiagen.com) | Trang web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

#### BD – Dịch vụ Khách hàng

##### Argentina, Uruguay and Paraguay

Orders: 0800.444.5523

E-mail: [crc\\_argentina@bd.com](mailto:crc_argentina@bd.com)

##### Australia

Orders: 1.800.656.100

Fax: 1.800.656.110

E-mail: [bd\\_anz@bd.com](mailto:bd_anz@bd.com)

##### Austria

Orders: 43.1.7063660

Fax: 43.1.706366011

E-mail: [customer care.at@bd.com](mailto:customer care.at@bd.com)

##### Belgium

Orders: 32.53.720.556

Fax: 32.53.720.549

E-mail: [orders.be@bd.com](mailto:orders.be@bd.com)

##### Brazil

Orders: 0800.055.56.54

E-mail: [consultoria\\_vacutainer@bd.com](mailto:consultoria_vacutainer@bd.com)

##### Canada

Technical support: 1.800.631.0174

Orders: 1.866.979.9408

Fax: 1.800.565.0897

E-mail: [customer.service.canada@bd.com](mailto:customer.service.canada@bd.com)

##### Central and Eastern Europe

Orders: 48.22.377.11.11

Fax: 48.22.377.11.02

Bulgaria orders: [info\\_bulgaria@bd.com](mailto:info_bulgaria@bd.com)

Czech Republic orders: [info\\_czech@bd.com](mailto:info_czech@bd.com)

Croatia orders: [info\\_croatia@bd.com](mailto:info_croatia@bd.com)

Hungary orders: [info\\_hungary@bd.com](mailto:info_hungary@bd.com)

Poland orders: [info\\_poland@bd.com](mailto:info_poland@bd.com)

Romania orders: [info\\_romania@bd.com](mailto:info_romania@bd.com)

Southeast Europe orders: [info\\_balkan@bd.com](mailto:info_balkan@bd.com)

Serbia orders: [info\\_serbia@bd.com](mailto:info_serbia@bd.com)

Slovakia orders: [info\\_slovakia@bd.com](mailto:info_slovakia@bd.com)

Slovenia orders: [info\\_slovenia@bd.com](mailto:info_slovenia@bd.com)

##### Denmark

Orders: 45.43.43.45.66

Fax: 45.43.96.56.76

Orders: [ordre.dk@bd.com](mailto:ordre.dk@bd.com)

Technical support: [bd denmark@bd.com](mailto:bd denmark@bd.com)

##### Finland

Orders: 358.9.88.70.780

Fax: 358.9.88.70.7816

Orders: [tilaukset.fi@bd.com](mailto:tilaukset.fi@bd.com)

E-mail: [bdsuomi@bd.com](mailto:bdsuomi@bd.com)

##### France

Orders: 33.476.68.36.36

Fax: 33.476.68.36.93

E-mail: [serviceclientbdf@bd.com](mailto:serviceclientbdf@bd.com)

Orders: [commandesfr@bd.com](mailto:commandesfr@bd.com)

Technical support: [vacutainerfr@bd.com](mailto:vacutainerfr@bd.com)

##### Germany

Orders: 49.6221.3050

Fax: 49.6221.305.216

E-mail: [customer care.de@bd.com](mailto:customer care.de@bd.com)

##### India

Orders: 91.124.3949390

Orders: [bd\\_india@bd.com](mailto:bd_india@bd.com)

##### Ireland (Aquilant Specialist Healthcare Services)

Customer support: 353.1.404.8350

Fax: 353.1.404.8352

E-mail: [contactus@aquilantscientific.ie](mailto:contactus@aquilantscientific.ie)

##### Israel (Lapidot Medical)

Customer Support: 972.700.70.90.22

E-mail: [cs@lapidot.com](mailto:cs@lapidot.com)

##### Italy

Orders: 39.02.48240.500

Fax: 39.02.48240.775

Technical support: 39.3450655140

E-mail: [ordini.it@bd.com](mailto:ordini.it@bd.com)

##### Middle East & Africa

Orders: 971.45.592.555

Fax: 971.45.592.599

E-mail: [EMA\\_PAS@bd.com](mailto:EMA_PAS@bd.com)

##### The Netherlands

Orders: 31.20.582.94.20

Fax: 31.20.582.94.21

Orders: [orders.nl@bd.com](mailto:orders.nl@bd.com)

**New Zealand**

Orders: 0800.572.468

Fax: 0800.572.469

E-mail: nz\_customerservice@bd.com

**Norway**

Customer Support: 64.00.99.00

E-mail: bdhorge@bd.com

Orders: ordre.no@bd.com

**Southeast Asia**

E-mail: PAS.SEA@bd.com

Indonesia orders: 622.1577.1920

Malaysia orders: 603.2093.8788

Philippines orders: 63.2478.8881

Singapore orders: 65.6861.0633

Thailand orders: 662.646.1800

Vietnam orders: 848.3822.7409

**South Korea**

Orders: 02.3404.3706

Fax: 02.3404.3785

Technical: 02.3404.3706

Technical support: Korea\_PAS@bd.com

**Spain, Portugal and Andorra**

Orders: 34.91.848.8174

Customer support: 34.902.27.17.27

Fax: 34.91.848.8115

E-mail: info.spain@bd.com

**Sweden**

Orders: 46.8.775.51.00

Fax: 46.8.645.08.08

Orders: order.se@bd.com

Technical support: bds sweden@bd.com

**Switzerland**

Orders: 41.61.485.22.24

Fax: 41.61.485.22.00

E-mail: infoch@bd.com

**UK**

Orders: 0800.917.8776

E-mail: bduk\_customerservice@bd.com

**USA**

Customer support: 800.631.0174

E-mail: productcomplaints@bd.com



A QIAGEN / BD Company

HB-0101-007 1122120VN BD-8945 12/2020  
Sản phẩm của Đức