

2020 年 12 月

PAXgene[®] Blood RNA Kit 使用手冊

第 2 版



50 (產品編號 762174)

R4 **MAT** 1122120TW

REF 762174



PreAnalytiX GmbH
Feldbachstrasse, CH-8634 Hombrechtikon
PreAnalytiX 委託 QIAGEN GmbH 製造

 PreAnalytiX

A QIAGEN / BD Company

商標：PAXgene®、PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH)；QIAGEN®、QIAcube® (QIAGEN Group)；BD Vacutainer®、BD Hemogard™、Safety-Lok™ (Becton, Dickinson and Company)；Eppendorf® (Eppendorf AG)。

PAXgene Blood RNA Kit 並未在所有國家上市；敬請洽詢。

有限授權合約

使用本產品表示 PAXgene Blood RNA Kit 的購買者或使用者同意以下條款：

1. PAXgene Blood RNA Kit 只能按照 *PAXgene Blood RNA Kit 使用手冊* 與試劑組內包含的成分搭配使用。除非在 *PAXgene Blood RNA Kit 使用手冊* 或 www.preanalytix.com 上提供的其他操作程序中另有說明，不得將本試劑組隨附的成分與任何未包含在本試劑組中的成分搭配或整合使用，PreAnalytiX 未在其智慧財產權下授權任何此等使用。
2. 除了特別聲明的授權外，PreAnalytiX 不保證本試劑組和/或其使用不會侵犯第三方的權利。
3. 本試劑組及其成分僅供一次使用，不得重複使用、翻新或再銷售。
4. 除了特別聲明的授權外，PreAnalytiX 明確否認全部明示或暗示的任何其他授權。
5. 本試劑組的購買者和使用者同意不會採取或允許他人採取可導致或促成以上所禁止行為的任何措施。
6. PreAnalytiX 可在任何法院申請強制執行此有限授權合約的禁止事項，並應取得在強制執行此有限授權合約，或本試劑組和/或其元件相關的任何智慧財產權的任何行動過程中，所產生的所有調查和訴訟費用，包括律師費。

更新版授權條款，請瀏覽 www.preanalytix.com。

附條件銷售

本產品附有 US-7,270,953 和 US-7,682,790 以及 EP-1820793 B1 之特定申請專利範圍，以及這些專利的外國相當專利之申請專利範圍授權，以使用產品處理 PAXgene Blood RNA Tube 樣本收集過程中形成之核酸複合物。

HB-0101-007 BD-8945 1122120 © 2005 - 2020 PreAnalytiX GmbH，保留所有權利。

PreAnalytiX GmbH
Feldbachstrasse
CH - 8634 Hombrechtikon
瑞士
www.preanalytix.com

PreAnalytiX 經銷商

PreAnalytiX 產品由 QIAGEN 或 BD 為 PreAnalytiX 製造及經銷。無法在 PreAnalytiX GmbH 訂購產品。


當地 PreAnalytiX 經銷商的聯絡資訊，請參閱最後一頁。

目錄

試劑組內容物.....	5
符號.....	6
儲存條件.....	7
預期用途.....	8
產品使用限制.....	8
品質控制.....	9
技術協助.....	9
安全資訊.....	9
簡介.....	12
原理與操作流程.....	12
樣本收集和穩定處理.....	13
RNA 濃度及純化.....	18
手動 RNA 純化.....	18
自動化 RNA 純化.....	28
使用者應自備的設備及試劑.....	37
重要須知.....	39
使用 QIAcube 儀器.....	39
在 QIAcube 儀器上安裝操作程序.....	42
裝載 QIAcube 儀器.....	43
操作程序：從收集至 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 的人類全血，手動純化總 RNA.....	53
操作程序：從收集至 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 的人類全血，自動化純化總 RNA ..	58
疑難排解指南.....	64

附錄 A：處理 RNA 的一般說明.....	66
附錄 B：總 RNA 的定量與品質判定	67
附錄 C：處理 PAXgene Blood RNA Tubes (BRT).....	69
訂購資訊	70
使用手冊修訂歷程記錄.....	72

試劑組內容物

PAXgene Blood RNA Kit			(50)
產品編號			762174
製備次數			50
BR1	Resuspension Buffer (重新懸浮緩衝液)	RES BUF	20 ml
BR2	Binding Buffer (結合緩衝液) *	BIND BUF	18 ml
BR3	Wash Buffer 1* (清洗緩衝液 1*)	WASH BUF 1	45 ml
BR4	Wash Buffer 2 (清洗緩衝液 2) (濃縮液) †	WASH BUF 2 CONC	11 ml
BR5	Elution Buffer (析出緩衝液)	ELU BUF	6 ml
RNFW	RNase-Free Water (無核糖核酸酶水) (瓶裝)	PEL WASH	2 × 125 ml
PK	Proteinase K (蛋白酶 K) (綠色蓋)	PROTK	2 × 1.4 ml
PRC	PAXgene RNA Spin Columns (PAXgene RNA 管柱) (紅色)	PAXgene RNA COL	5 × 10
PT	Processing Tubes (處理試管) (2 ml)	PROC TUBE	6 × 50
Hemogard	Secondary BD Hemogard™ Closures (二次 BD Hemogard™ 封閉蓋)	SEC CLOS	50
MCT	Microcentrifuge Tubes (微量離心管) (1.5 ml)	MIC TUBE	3 × 50, 1 × 10
RNFD	DNase I, RNase-free (DNA 酶 I, 無 RNA 酶) (冷凍乾燥)	DNA REM	1500 Kunitz 單位 ‡
RDD	DNA Digestion Buffer (DNA 消化緩衝液) (白色蓋)	DNA DIG BUF	2 × 2 ml
DRB	DNase Resuspension Buffer (DNA 酶重新懸浮緩衝液) (試管, 紫丁香色蓋)	DNase RES BUF	2 ml
PSC	PAXgene Shredder Spin Columns (PAXgene Shredder 管柱) (紫丁香色)	PAXgene SHRED COL	5 × 10
使用手冊	PAXgene Blood RNA Kit Handbook (PAXgene Blood RNA Kit 使用手冊) (第 2 版)		1

* 與含有漂白劑的消毒劑不相容。含有胍鹽。安全資訊見第 9 頁。

† 清洗緩衝液 2 (BR4) 為濃縮液。首次使用前, 請依瓶身的說明加入 4 倍體積的乙醇 (96 - 100%, p.a. 純度等級), 以製備工作溶液。

‡ Kunitz 單位是常用於測量 DNase I 的單位, 定義為在 25°C、pH 5.0 條件下, 使用高度聚合 DNA 做為受質, 造成 A₂₆₀ 吸光值每毫升每分鐘增加 0.001 的 DNase I 含量 (Kunitz, M. (1950) J. Gen.Physiol. **33**, 349 和 363)。

符號



含有足夠進行 <N> 次測試的試劑



參閱使用說明



使用期限



體外診斷醫療器材



產品編號



批號



材料編號



成分



數量



滅菌方法使用輻射照射



Kunitz 單位



加入



內含物



配製



去氧核糖核酸酶 I



乙醇

GITC

異硫氰酸胍

RNase-Free DNase Set

RNase-Free DNase Set

GTIN

全球交易品項識別代碼



不可重複使用



溫度限制



溫度上限



製造商



重要須知

儲存條件

PAXgene RNA 管柱 (PRC)、PAXgene Shredder 管柱 (PSC)、蛋白酶 K (PK) 和緩衝液 (BR1、BR2、BR3、BR4 和 BR5)，應在試劑組標籤指示的溫度下乾燥儲存。

RNase-Free DNase Set，其中包含 DNase I (RNFD)、DNA 消化緩衝液 (RDD) 和 DNase 重新懸浮緩衝液 (DRB)，會在室溫下運送。收到產品後，請將 RNase-Free DNase Set 所有成分立即儲存在標籤指示的溫度下。在正確儲存條件下，試劑組可保持穩定直到試劑盒上標示的保存期限。

預期用途

PAXgene Blood RNA System 包含一個血液收集管 (PAXgene Blood RNA Tube, BRT) 和核酸純化試劑組 (PAXgene Blood RNA Kit)。其適用於在密封試管內收集、儲存和運送血液，並穩定細胞內 RNA，以及後續從全血分離和純化個體 RNA，以進行用於分子診斷檢測的 RT-PCR。

僅以 **FOS** 和 **IL1B** 基因轉錄物，確立過 **PAXgene Blood RNA System** 的效能特性。使用者需負責針對其他目標轉錄物，確立適當的 **PAXgene Blood RNA System** 效能特性。

使用說明

PAXgene Blood RNA Kit 可用於從 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 內收集的全血，純化細胞內 RNA。試劑組搭配 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 使用時，系統提供從全血純化的細胞內 RNA，以進行用於分子診斷檢測的 RT-PCR。

產品使用限制

PAXgene Blood RNA Kit 可用於純化人類全血的細胞內 RNA ($4.8 \times 10^6 - 1.1 \times 10^7$ 個白血球/ml)，做為體外診斷應用。並非用於從人類全血純化基因體 DNA 或病毒核酸。由於驗證過穩定性品質標準的轉錄物數量有限 (FOS 和 IL1B 基因轉錄物)，並未針對所有轉錄物確立過效能特性。使用者應查看製造商的資料和他們自己的資料，以判斷其他轉錄物是否需要驗證。

該產品旨在供專業使用者使用，例如在體外診斷程序方面經過培訓的技術員和醫師。

PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) 的使用資訊，請參閱 *PAXgene Blood RNA Tube 使用手冊*。

品質控制

依照 QIAGEN 的 ISO 認證品質管制系統，每批 PAXgene Blood RNA Kit 已針對預定品質標準進行了檢測，以確保產品品質一致。

技術協助

QIAGEN 員工皆為公司技術支援的品質和效率而自豪。我們技術服務部門的員工皆為經驗豐富的專家，他們在分子生物學以及 PreAnalytiX 產品使用方面具備廣泛的實踐和理論知識。如果您對 PAXgene Blood RNA Kit 有任何問題，請隨時與我們聯絡。

如需技術協助和更多資訊，請致電 QIAGEN 技術服務部。

安全資訊

歐盟 - 使用者應向製造商及國家主管機關，通報與器材相關的任何嚴重事件。歐盟以外 - 與器材有關的任何事件或問題，請聯絡當地 QIAGEN 代表。

在操作化學物質時，務必穿戴合適的實驗室工作服、拋棄式手套和護目鏡。

操作生物性和化學物質時，務必穿戴合適的實驗室工作服、拋棄式手套和護目鏡，以避免感染（例如 HIV 或 B 型肝炎病毒）或受傷的風險。如需瞭解更多資訊，請參閱相應的安全資料表 (Safety Data Sheets, SDS)。這些安全資料表以簡潔方便的 PDF 格式在線上提供：www.preanalytix.com，您可以從中找到、瀏覽並列印此試劑組的安全資料表 (Safety Data Sheets, SDS)。

警示

切勿直接將漂白劑或酸性溶液加入樣本製備廢液中。



結合緩衝液 (BR2) 及清洗緩衝液 1 (BR3) 中含有硫氰酸胍，與漂白劑結合後會形成高反應性的化合物。如果結合緩衝液 (BR2) 或清洗緩衝液 1 (BR3) 濺出，請使用合適的實驗室清潔劑和水來清潔。如果含有可能具感染性病原體的液體濺出，請先使用實驗室清潔劑和水來清潔受影響的區域，然後再使用 1% (v/v) 次氯酸鈉（漂白劑）進行清潔。

對於 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 中的 RNA 穩定溶液和血液混合物，每 9 份體積的 RNA 穩定溶液和血液混合物，可以使用 1 份體積的市售漂白劑溶液（5% 次氯酸鈉）消毒。

樣本製備廢液（例如 RNA 純化程序中離心步驟的上清液）會視為可能具有感染性。棄置前，廢液必須以高溫高壓滅菌或焚化，以破壞所有感染性物質。必須依據正式規範進行棄置。

用於 PAXgene Blood RNA Kit 成分的危害及預警說明如下所示。PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) 的安全資訊，請參閱 *PAXgene Blood RNA Tube 使用手冊*。

緩衝液 BR2



含有：硫氰酸胍。危險！如果吞嚥會有危害。接觸皮膚或吸入時可能有害。造成嚴重眼睛損傷。對水生生物有持久傷害。與酸接觸會釋放高毒性的氣體。穿戴防護手套/防護衣/護目鏡/防護面罩。如果接觸眼睛：用水小心地沖洗幾分鐘。如果配戴隱形眼鏡且可輕易移除，則移除隱形眼鏡。繼續清洗。立即聯絡毒物中心或醫師。

緩衝液 BR3



含有：乙醇；硫氰酸胍。危險！易燃液體和蒸汽。造成嚴重眼睛損傷。與酸接觸會釋放高毒性的氣體。遠離熱源/火花/明火/熱表面。禁止吸煙。穿戴防護手套/防護衣/護目鏡/防護面罩。如果接觸眼睛：用水小心地沖洗幾分鐘。如果配戴隱形眼鏡且可輕易移除，則移除隱形眼鏡。繼續清洗。立即聯絡毒物中心或醫師。

DNase I



包含：DNase。危險！可能造成過敏性皮膚反應。如果吸入，可能會造成過敏、氣喘症狀或呼吸困難。避免吸入灰塵/煙塵/煤氣/霧氣/蒸汽/噴霧。穿戴防護手套/防護衣/護目鏡/防護面罩。配戴呼吸防護品。如果暴露或擔憂可能暴露：請聯絡毒物中心或醫師/內科醫師。請將傷者移往通風良好的場所，並且保持呼吸順暢的姿勢休息。

蛋白酶 K



包含：蛋白酶 K。危險！造成輕微皮膚刺激。如果吸入，可能會造成過敏、氣喘症狀或呼吸困難。避免吸入灰塵/煙塵/煤氣/霧氣/蒸汽/噴霧。穿戴防護手套/防護衣/護目鏡/防護面罩。配戴呼吸防護品。如果暴露或擔憂可能暴露：請聯絡毒物中心或醫師/內科醫師。請將傷者移往通風良好的場所，並且保持呼吸順暢的姿勢休息。

簡介

收集全血是 RNA 許多分子檢測（用於研究細胞）的第一步。不過，這類實驗的主要問題是，細胞 RNA 在體外的不穩定特性。PreAnalytiX 的研究顯示，在室溫儲存或運送期間，全血中個別 mRNA 種類的拷貝數可能改變超過 1000 倍。*這是由快速 RNA 降解，以及抽血後誘發的特定基因表現所致。RNA 表現特性的這類變化，造成無法進行可靠的基因表現研究。因此亟需可在抽血期間和之後保存 RNA 表現特性的方法，以準確分析人類全血中的基因表現。

原理與操作流程

PreAnalytiX 研發出一套系統，可收集、穩定、儲存和運送人類全血試樣，以及用於純化細胞內 RNA 的快速有效率操作程序。系統需要使用 PAXgene Blood RNA Tube (BRT；美國專利字號 6,602,718 和 6,617,170) 進行血液收集和 RNA 穩定處理，然後使用 PAXgene Blood RNA Kit 進行手動或自動化 RNA 純化。手動和自動化操作程序就 RNA 品質和產量而言，具有大致相等的效能。本使用手冊包含手動操作程序（第 21 - 28 頁）和自動化操作程序（第 30 - 34 頁）的效能資料。



QIAGEN QIAcube Connect MDx 並未在所有國家上市。如需詳細資訊，請聯絡 QIAGEN 技術服務部。

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

樣本收集和穩定處理

PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) 包含依據專利 RNA 穩定處理技術的專有試劑成分。這種試劑成分可保護 RNA 分子，防止由 RNase 造成的降解，並減少基因表現的離體變化。PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) 可用於收集人類全血及穩定細胞 RNA，在 18 – 25°C 下（第 14 和 15 頁的圖 1 和 2）最多 3 天，或 2 – 8°C 下（第 16 和 17 頁的圖 3 和 4）最多 5 天。現有資料顯示，在 -20°C 或 -70°C 下可穩定細胞 RNA 至少 11 年*。如需深入瞭解評估長期穩定性的進行中研究，請聯絡 QIAGEN 技術服務部。

RNA 穩定處理的實際持續期間，可能依據細胞 RNA 種類及使用的下游應用而有所不同。由於驗證過穩定性品質標準的轉錄物數量有限（FOS 和 IL1B 基因轉錄物），並未針對所有轉錄物確立過效能特性。使用者應查看製造商的資料和他們自己的資料，以判斷其他轉錄物是否需要驗證。

* 以 PAXgene Blood RNA Tube 儲存血液的一項長期研究目前在進行中。

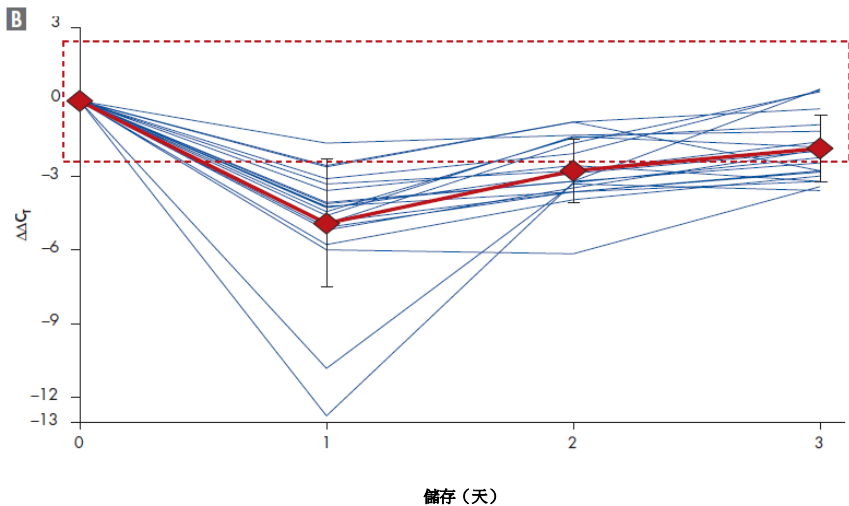
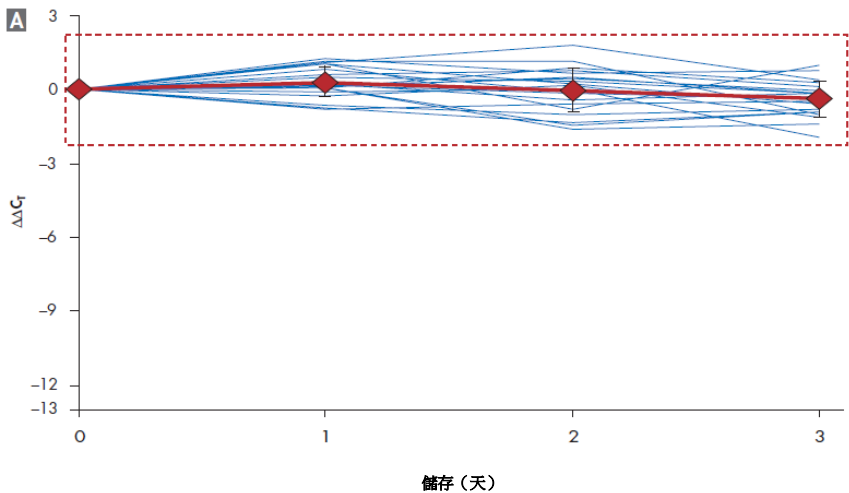


圖 1：18 - 25°C 下，血液樣本中的 RNA 穩定性：FOS。血液取自 10 位捐贈者，抽取兩份樣本在 18 - 25°C 下儲存指定天數，然後純化總 RNA。**[A]** 血液以 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 收集和儲存，並使用 PAXgene Blood RNA Kit 純化總 RNA。**[B]** 血液以使用 EDTA 做為抗凝劑的標準血液收集管收集和儲存，並使用標準有機萃取法純化總 RNA，再以矽基膜進行 RNA 清除。FOS 的相對轉錄物濃度以二重複 *real-time* RT-PCR 決定，並使用 18S rRNA 做為內部標準品。繪製出所有樣本的數值，並顯示所有樣本的平均和標準差。虛線表示檢測的 $\pm 3\times$ 總精確度 (2.34 C_t)。

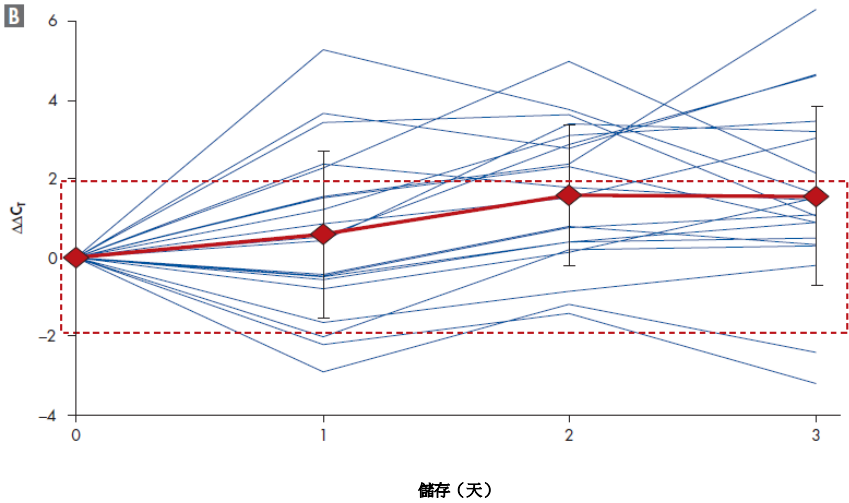
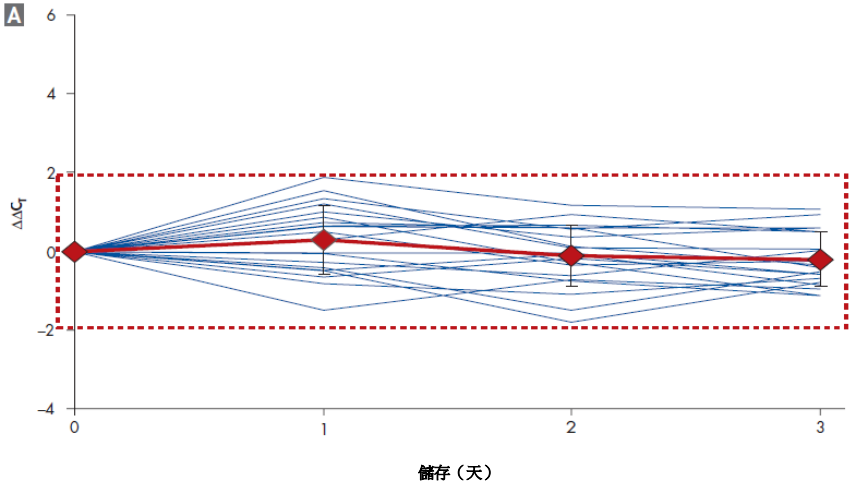


圖 2：18 - 25°C 下，血液樣本中的 RNA 穩定性：IL1B。 抽血並在 18 - 25°C 下儲存後純化總 RNA，如圖 1 所示。IL1B 的相對轉錄物濃度以二重複 *real-time* RT-PCR 決定，並使用 18S rRNA 做為內部標準品。繪製出所有樣本的數值，並顯示所有樣本的平均和標準差。虛線表示檢測的 $\pm 3x$ 總精確度 ($1.93 C_t$)。

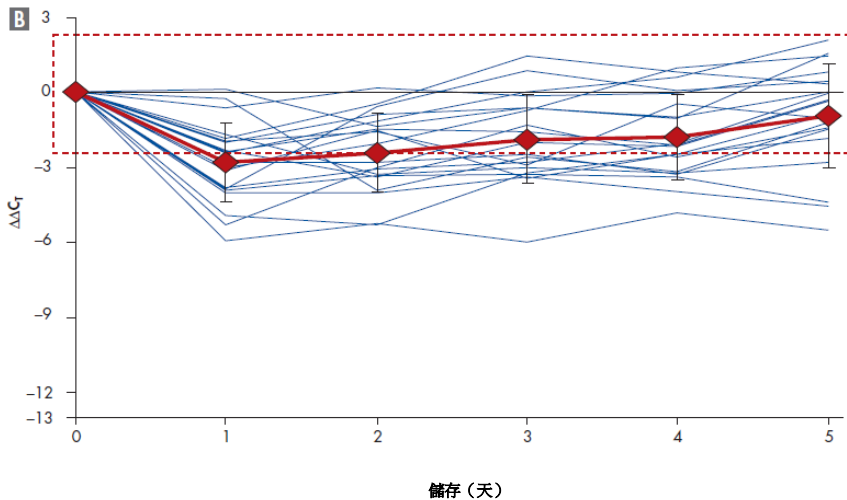
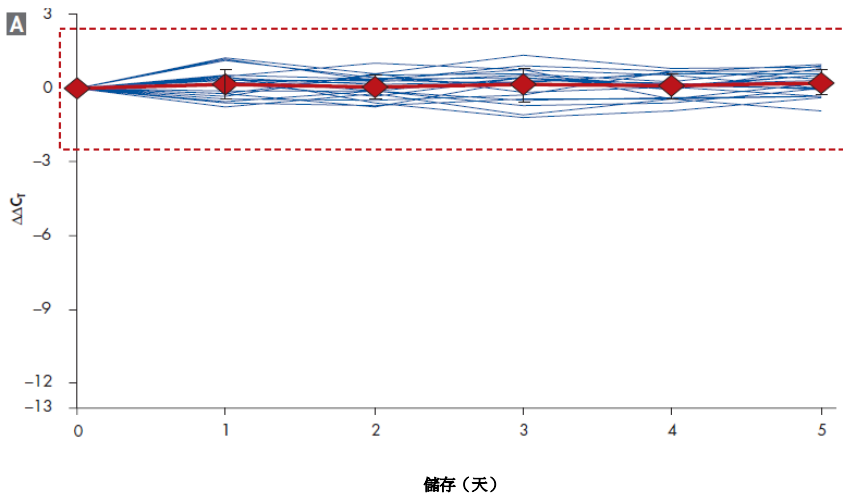


圖 3：2 - 8°C 下，血液樣本中的 RNA 穩定性：FOS。血液取自 10 位捐贈者，抽取兩份樣本在 2 - 8°C 下儲存指定天數，然後純化總 RNA。[A] 血液以 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 收集和儲存，並使用 PAXgene Blood RNA Kit 純化總 RNA。[B] 血液以使用 EDTA 做為抗凝劑的標準血液收集管收集和儲存，並使用標準有機萃取法純化總 RNA，再以矽基膜進行 RNA 清除。FOS 的相對轉錄物濃度以二重複 *real-time* RT-PCR 決定，並使用 18S rRNA 做為內部標準品。繪製出所有樣本的數值，並顯示所有樣本的平均和標準差。虛線表示檢測的 $\pm 3x$ 總精確度 ($2.34 C_t$)。

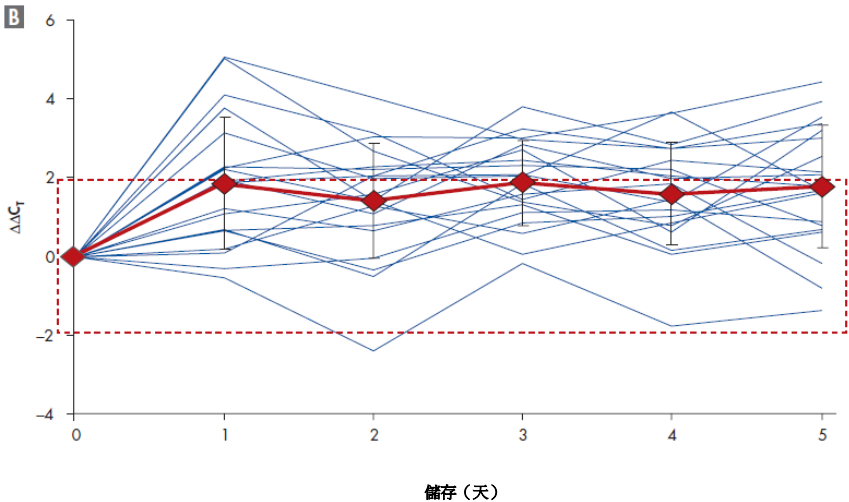
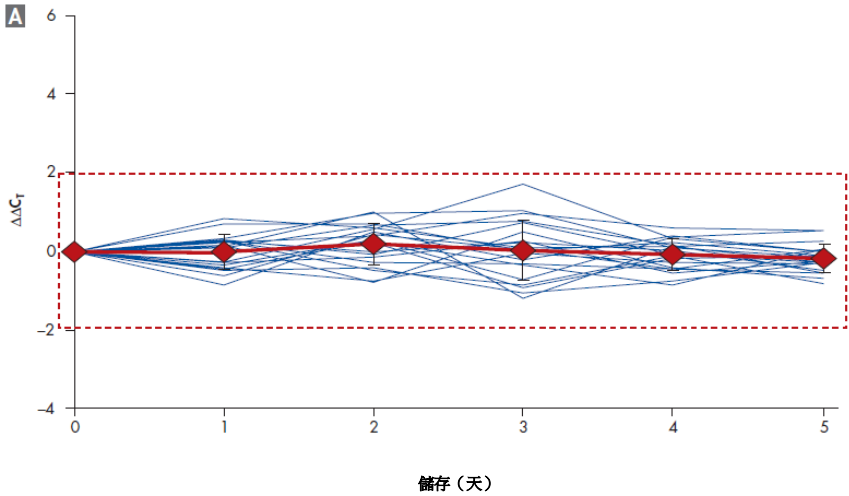


圖 4 : 2 - 8°C 下，血液樣本中的 RNA 穩定性：IL1B。 抽血並在 2 - 8°C 下儲存後純化總 RNA，如圖 3 所示。IL1B 的相對轉錄物濃度以二重複 *real-time* RT-PCR 決定，並使用 18S rRNA 做為內部標準品。繪製出所有樣本的數值，並顯示所有樣本的平均和標準差。虛線表示檢測的 $\pm 3x$ 總精確度 ($1.93 C_t$)。

RNA 濃度及純化

PAXgene Blood RNA Kit 可用於從 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 內收集的 2.5 ml 人類全血，純化總 RNA。程序簡便，並可使用手動或自動化程序進行（請參閱第 19 和 29 頁的圖 5 和 10）。在這兩項操作程序中，純化都是從離心步驟開始，讓 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 內的核酸形成團塊。清洗團塊後重新懸浮，然後進行手動或自動化 RNA 純化。原則上，兩種操作程序都使用相同的試劑組成分，並遵循相同的操作程序步驟。

手動 RNA 純化

詳細的操作程序為，重新懸浮的團塊在含有蛋白酶 K (PK) 的最佳化緩衝液中靜置，以進行蛋白質消化。藉由 PAXgene Shredder 管柱 (PSC) 進行額外的離心，讓細胞溶胞物均質化，並去除殘留的細胞碎屑，將流經液體部分的上清液轉移至新的微量離心管。加入乙醇以調整結合條件，再將溶胞物加至 PAXgene RNA 管柱 (PRC)。在短暫離心期間，RNA 會選擇性結合至 PAXgene 矽膜，而污染物會通過。以數次有效清洗步驟去除剩餘的污染物。在第一次與第二次清洗步驟之間，將 DNase I (RNFD) 加至膜上，以去除微量的結合 DNA。清洗步驟完成後，以析出緩衝液 (BR5) 溶析 RNA 並加熱變性。

使用 PAXgene Blood RNA System 分離可取得純的總 RNA。使用手動操作程序，以 beta-actin 基因序列的定量 real-time PCR 測得之 A_{260}/A_{280} 比值為 1.8 至 2.2，所有樣本中 $\geq 95\%$ 的基因體 DNA $\leq 1\%$ (w/w)。使用最多 30% 的溶析物時，至少 95% 的樣本在 RT-PCR 過程中並未發生抑制。

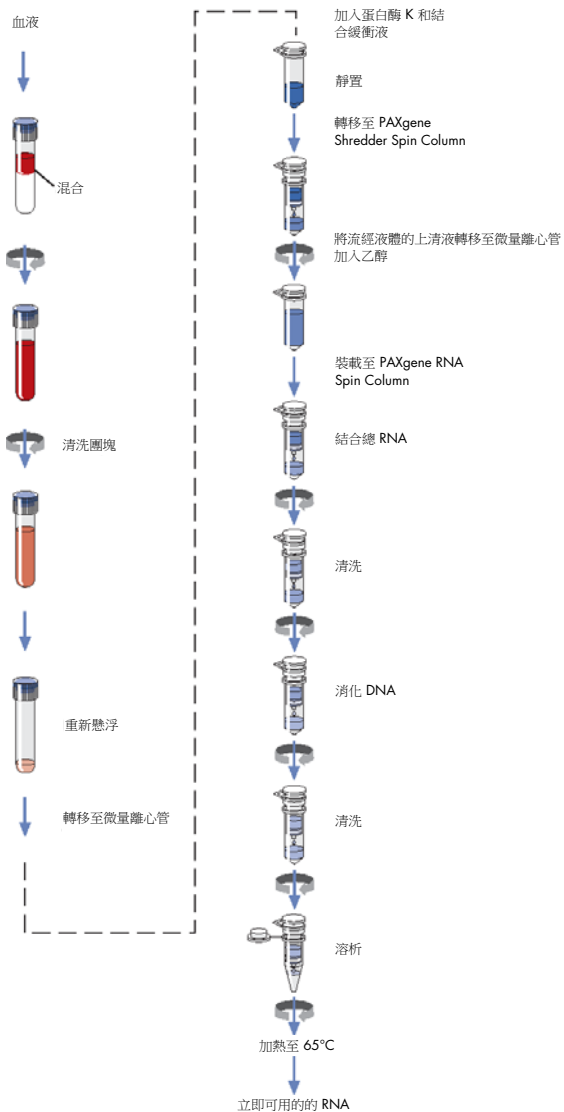


圖 5：手動 PAXgene Blood RNA 程序。

使用手動操作程序的樣本製備平均時間（依據 12 次樣本製備運行的資料）約為 90 分鐘*，其中只有 40 分鐘的實際操作時間。在 $\geq 95\%$ 的處理後樣本中，2.5 ml 健康人類全血的 RNA 產量 $\geq 3 \mu\text{g}$ 。由於產量與捐贈者高度相關，個別捐贈者的產量可能不同。對於個別捐贈者，PAXgene Blood RNA System 提供高度可再現和可重複的產量（第 21 和 22 頁的圖 6 和 7），以及可再現和可重複的 RT-PCR（第 26 和 27 頁的圖 8 和 9），使其用於臨床診斷檢測時具有高度穩健性。

圖 6（第 21 頁）顯示 PAXgene Blood RNA System 的整體重複性和再現性。先前進行過其他研究，顯示不同 PAXgene Blood RNA kit 批次和不同操作人員，對於 RNA 產量再現性和 real-time RT-PCR 效能的影響。由於這些研究使用合併的血液樣本，而非個別 PAXgene Blood RNA Tubes (BRT)，研究結果無法反映系統重複性（包括個別抽血之間的波動），而只能反映樣本製備的重複性（請參閱第 22 頁的圖 7）。

* 總操作程序運行時間，包括 PAXgene Blood RNA Tube 的前置處理（離心、團塊清洗和團塊重新懸浮）。

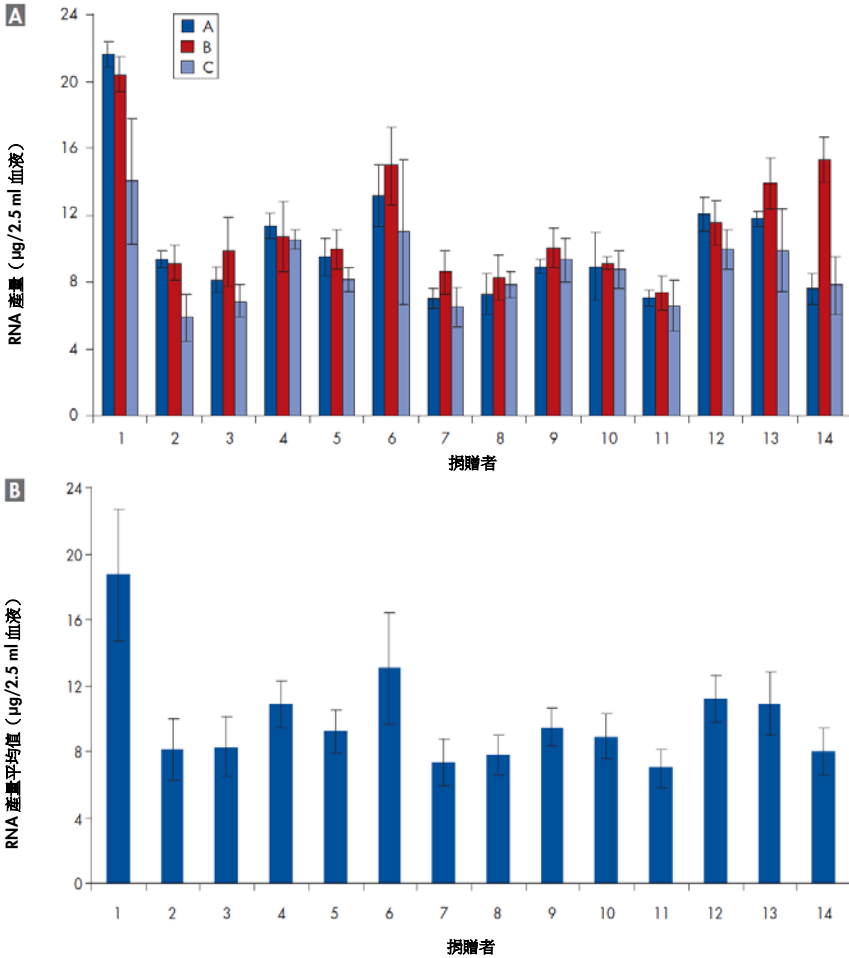


圖 6：可再現和可重複的 RNA 純化。 3 位技術人員（A、B、C）分別手動處理 14 位捐贈者的四重複血液樣本。使用 3 組設備，且所有樣本由單一技術人員使用相同設備處理製備。**[A]** 呈現來自相同捐贈者但由不同技術人員處理的每份二重複樣本，其 RNA 產量的平均和標準差。**[B]** 來自 14 位捐贈者，每位的 12 份二重複血液樣本，由 3 位不同技術人員處理。呈現來自相同捐贈者且由所有技術人員處理的每份樣本，其 RNA 產量的平均和標準差。所有 RNA 樣本的 A_{260}/A_{280} 比值為 1.8 至 2.2。

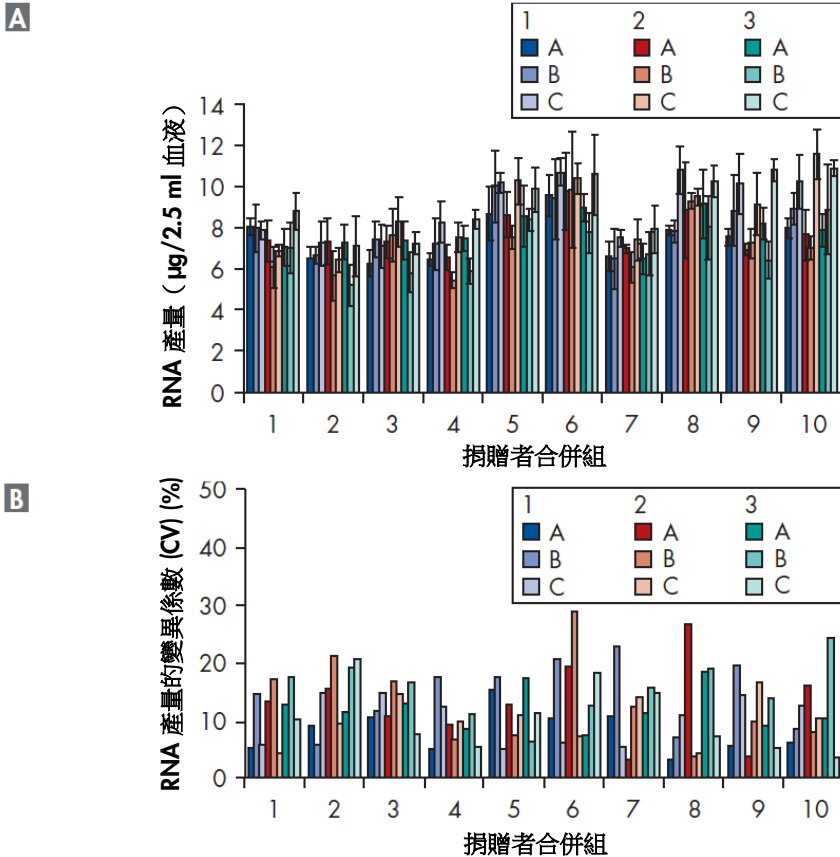


圖 7：由不同操作人員使用不同的 PAXgene Blood RNA Kit 批次，處理合併血液樣本的 RNA 產量重複性和再現性。以 PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) 收集 30 位不同捐贈者的血液樣本（每位捐贈者 12 支試管，總計 360 支試管）。合併 3 位捐贈者的試管內容物，接著重新分裝為 36 份樣本。每 3 位捐贈者合併的 36 份樣本，由 3 位不同的操作人員手動處理。每位操作人員使用 3 個不同的 PAXgene Blood RNA Kit 批次，對 10 個捐贈者合併組中的每份四重複樣本，進行萃取和處理。**[A]** 每位操作人員 - 批次組合的 RNA 產量和標準差。10 個捐贈者合併組的四重複血液樣本，由 3 位不同操作人員（A、B、C）分別以 3 個試劑組批次（1、2、3）處理。呈現由不同操作人員使用不同試劑組批次，相同捐贈者合併組每份四重複樣本的平均產量（直條）和標準差（誤差線）。**[B]** 由圖 7A 的平均產量及其標準差所計算，所有操作人員 - 批次組合（A、B、C；1、2、3）每個捐贈者合併組的 RNA 產量變異係數 (CV)。

表 1A：選定的捐贈者合併組（1、6、9、10）中，每個批次內和每位使用者內的再現性

資料組合	捐贈者合併組 1 5.1 x 10 ⁶ 個細胞/ml			捐贈者合併組 6 6.5 x 10 ⁶ 個細胞/ml		
	平均產量 (µg)	SD (µg)	CV (%)	平均產量 (µg)	SD (µg)	CV (%)
批次 1，使用者 A	8.03	0.42	5	9.55	0.99	10
批次 1，使用者 B	7.98	1.17	15	9.38	1.94	21
批次 1，使用者 C	7.87	0.45	6	10.71	0.65	6
批次 2，使用者 A	7.32	0.98	13	9.78	1.89	19
批次 2，使用者 B	6.09	1.04	17	9.82	2.83	29
批次 2，使用者 C	6.87	0.31	4	10.37	0.74	7
批次 3，使用者 A	7.04	0.90	13	8.96	0.68	8
批次 3，使用者 B	6.98	1.22	17	7.73	0.97	13
批次 3，使用者 C	8.78	0.89	10	10.59	1.94	18
資料組合	捐贈者合併組 9 8.4 x 10 ⁶ 個細胞/ml			捐贈者合併組 10 10.2 x 10 ⁶ 個細胞/ml		
	平均產量 (µg)	SD (µg)	CV (%)	平均產量 (µg)	SD (µg)	CV (%)
批次 1，使用者 A	7.52	0.41	6	7.96	0.49	6
批次 1，使用者 B	8.82	1.72	19	8.90	0.76	9
批次 1，使用者 C	10.14	1.46	14	10.22	1.29	13
批次 2，使用者 A	6.92	0.27	4	7.63	1.23	16
批次 2，使用者 B	7.20	0.71	10	7.00	0.56	8
批次 2，使用者 C	9.14	1.52	17	11.56	1.21	10
批次 3，使用者 A	8.18	0.76	9	7.85	0.82	10
批次 3，使用者 B	6.41	0.88	14	8.88	2.17	24
批次 3，使用者 C	10.78	0.56	5	10.88	0.37	3

表 1B：選定的捐贈者合併組（1、6、9、10）中，每位使用者內和所有批次之間的再現性

資料組合	捐贈者合併組 1 5.1 x 10 ⁶ 個細胞/ml			捐贈者合併組 6 6.5 x 10 ⁶ 個細胞/ml		
	平均產量 (µg)	SD (µg)	CV (%)	平均產量 (µg)	SD (µg)	CV (%)
使用者 A，所有批次	7.46	0.85	11	9.43	1.22	13
使用者 B，所有批次	7.02	1.31	19	8.98	2.09	23
使用者 C，所有批次	7.84	0.98	13	10.56	1.15	11
資料組合	捐贈者合併組 9 8.4 x 10 ⁶ 個細胞/ml			捐贈者合併組 10 10.2 x 10 ⁶ 個細胞/ml		
	平均產量 (µg)	SD (µg)	CV (%)	平均產量 (µg)	SD (µg)	CV (%)
使用者 A，所有批次	7.54	0.72	10	7.81	0.82	11
使用者 B，所有批次	7.48	1.50	20	8.26	1.54	19
使用者 C，所有批次	10.02	1.34	13	10.89	1.10	10

表 1C：選定的捐贈者合併組（1、6、9、10）中，每個批次內和所有使用者之間的再現性

資料組合	捐贈者合併組 1 5.1 x 10 ⁶ 個細胞/ml			捐贈者合併組 6 6.5 x 10 ⁶ 個細胞/ml		
	平均產量 (µg)	SD (µg)	CV (%)	平均產量 (µg)	SD (µg)	CV (%)
批次 1，所有使用者	7.96	0.69	9	9.88	1.34	14
批次 2，所有使用者	6.76	0.93	14	9.99	1.84	18
批次 3，所有使用者	7.60	1.27	17	9.09	1.71	19
資料組合	捐贈者合併組 9 8.4 x 10 ⁶ 個細胞/ml			捐贈者合併組 10 10.2 x 10 ⁶ 個細胞/ml		
	平均產量 (µg)	SD (µg)	CV (%)	平均產量 (µg)	SD (µg)	CV (%)
批次 1，所有使用者	8.83	1.63	19	9.02	1.27	14
批次 2，所有使用者	7.75	1.36	18	8.73	2.31	26
批次 3，所有使用者	8.46	1.99	24	9.20	1.80	20

表 1D：選定的捐贈者合併組（1、6、9、10）中，所有批次與所有使用者之間的再現性

資料組合	捐贈者合併組 1 5.1 x 10 ⁶ 個細胞/ml			捐贈者合併組 6 6.5 x 10 ⁶ 個細胞/ml		
	平均產量 (µg)	SD (µg)	CV (%)	平均產量 (µg)	SD (µg)	CV (%)
批次 1，所有使用者	7.44	1.09	15	9.66	1.65	17
資料組合	捐贈者合併組 9 8.4 x 10 ⁶ 個細胞/ml			捐贈者合併組 10 10.2 x 10 ⁶ 個細胞/ml		
	平均產量 (µg)	SD (µg)	CV (%)	平均產量 (µg)	SD (µg)	CV (%)
批次 1，所有使用者	8.35	1.70	20	8.99	1.80	20

4 個代表性捐贈者合併組的詳細分析。合併組依據白血球計數選取，反映白血球計數正常範圍的上限值、中間值和下限值 (4.8×10^6 – 1.1×10^7 個白血球/ml)。白血球計數代表每個捐贈者合併組中，3 位捐贈者的 3 次白血球計數平均值。

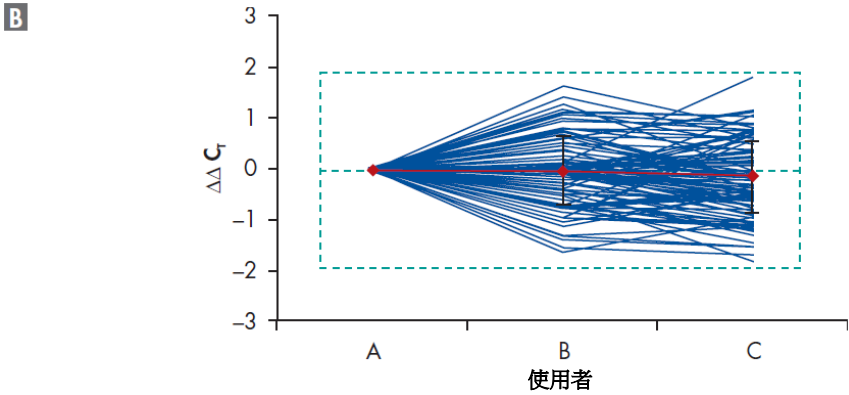
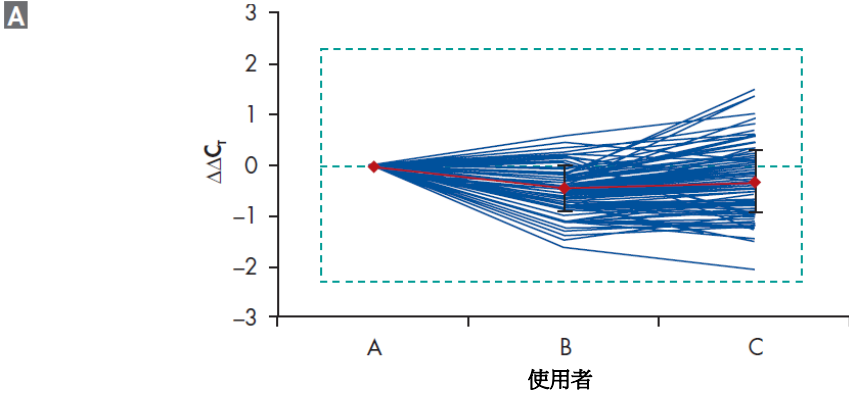


圖 8 : RT-PCR 的再現性 — 使用者之間。 圖 7 所述實驗中純化的 RNA，用於進行 real-time RT-PCR。[A] FOS 和 [B] IL1B 的相對轉錄物濃度以二重複 real-time RT-PCR 決定，並使用 18S rRNA 做為內部標準品。相對於使用者 A 的數值，繪製出所有樣本的數值（10 個捐贈者合併組 x 3 個試劑組批次 x 4 次重複 = 每個基因 120 個資料集），並呈現所有樣本的平均（紅線）和標準差（黑色線）。虛線表示檢測的 $\pm 3x$ 總精確度（FOS : 2.34 C_T ; IL1B : 1.93 C_T ）。

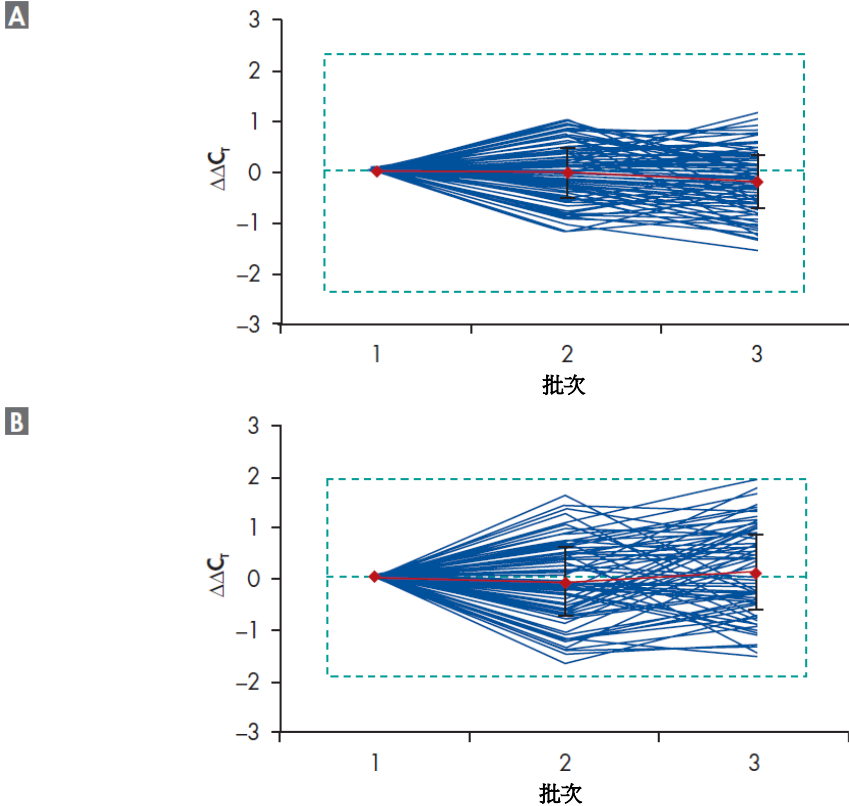


圖 9：RT-PCR 的再現性 — 試劑組批次之間。 圖 7 所述實驗中純化的 RNA，用於進行 real-time RT-PCR。**[A]** FOS 和 **[B]** IL1B 的相對轉錄物濃度以二重複 real-time RT-PCR 決定，並使用 18S rRNA 做為內部標準品。相對於試劑組批次 1 的數值，繪製出所有樣本的數值（10 個捐贈者合併組 \times 3 個使用者 \times 4 次重複 = 每個基因 120 個資料集），並呈現所有樣本的平均（紅線）和標準差（黑色線）。虛線表示檢測的 $\pm 3x$ 總精確度（FOS：2.34 C_T ；IL1B：1.93 C_T ）。

表 2：圖 8 和 9 的 RT-PCR 資料摘要

測試系統 資料比較	FOS/18S rRNA 檢測		IL1B/18S rRNA 檢測	
	平均 ($\Delta\Delta C_T$)	\pm SD ($\Delta\Delta C_T$)	平均 ($\Delta\Delta C_T$)	\pm SD ($\Delta\Delta C_T$)
每位使用者內和所有批次之間的再現性				
所有使用者，批次 1 - 批次 1	0.00	0.00	0.00	0.00
所有使用者，批次 1 - 批次 2	-0.03	0.48	-0.07	0.66
所有使用者，批次 1 - 批次 3	-0.21	0.52	0.11	0.71
每位使用者內和所有批次之間的再現性				
所有批次，使用者 A - 使用者 A	0.00	0.00	0.00	0.00
所有批次，使用者 A - 使用者 B	-0.46	0.44	-0.06	0.69
所有批次，使用者 A - 使用者 C	-0.31	0.60	-0.15	0.71

使用者：技術人員，執行研究。

批次：此研究使用的試劑組批次編號。

SD：標準差。

針對圖 8 和 9 中呈現的資料，顯示 $\Delta\Delta C_T$ 平均值 (N = 120) 和標準差。

自動化 RNA 純化

在 QIAGEN QIAcube Connect MDx 或傳統的 QIAGEN QIAcube (後文簡稱 QIAcube) 上，血液 RNA 的純化為自動化進行。創新的 QIAcube 儀器使用先進技術處理 QIAGEN 管柱，可將自動化、低通量樣本製備無縫整合至實驗室工作流程。使用 QIAcube 儀器進行的樣本製備，依循與手動程序相同的步驟 (亦即，溶解、結合、清洗和溶析)，讓您可持續使用 PAXgene Blood RNA Kit 純化高品質 RNA。



圖 10 : QIAcube Connect MDx。

自動化 RNA 純化操作程序包含 2 個部分（或操作程序）：「PAXgene Blood RNA Part A」和「PAXgene Blood RNA Part B」，2 個部分之間有一個簡短的手動介入操作（請參閱第 30 頁的圖 11）。

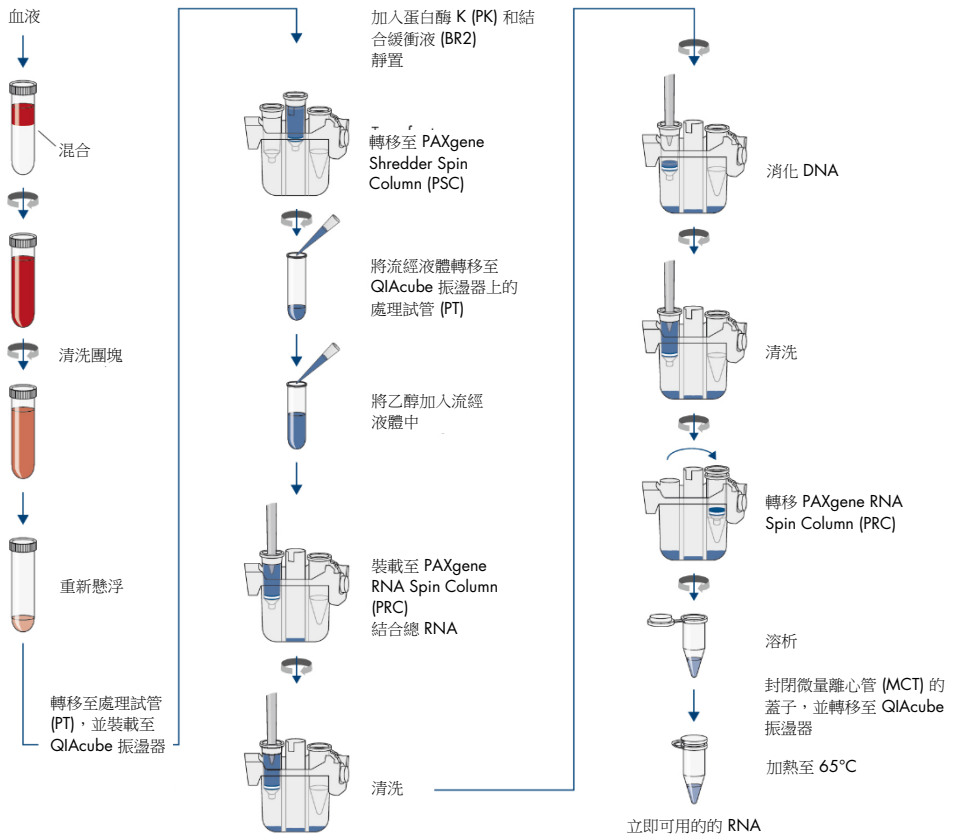


圖 11：自動化 PAXgene Blood RNA 程序。

經過離心、清洗和重新懸浮的核酸團塊（請參閱第 18 頁的「RNA 濃度及純化」）從 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 轉移至處理試管 (PT)，然後放入 QIAcube 儀器工作台上的加溫振盪器單元。操作人員從功能表選擇並開始「PAXgene Blood RNA Part A」操作程序。QIAcube 儀器執行操作程序的步驟，直到溶析 RNA 至析出緩衝液 (BR5) 內。操作人員將含有純化 RNA 的微量離心管 (MCT) 轉移至 QIAcube 儀器的加溫振盪器單元。操作人員從功能表選擇並開始「PAXgene Blood RNA Part B」操作程序，由 QIAcube 儀器進行加熱變性。

樣本製備平均時間（依據 12 次樣本製備運行的資料）為 151 分鐘*，實際操作時間顯著少於手動操作程序。

在 $\geq 95\%$ 的處理後樣本中，2.5 ml 健康人類全血的 RNA 產量 $\geq 3 \mu\text{g}$ 。圖 12（第 32 頁）顯示，由 3 位操作人員以 3 個試劑組批次，使用自動化操作程序製備的總計 216 份樣本 RNA 產量。由於這些研究使用合併的血液樣本，而非個別 PAXgene Blood RNA Tube (BRT)，研究結果無法反映個別抽血單一標本預期的 RNA 產量。由於產量與捐贈者高度相關，個別捐贈者的產量可能不同（第 32 頁的圖 12）。

使用最多 30% 的溶析物時，至少 95% 的樣本在 RT-PCR 過程中並未發生抑制。使用自動化操作程序，在同一次運行內，對 RNA 陽性樣本（人類全血）與 RNA 陰性樣本（水）進行 ABL1 和 FOS 轉錄物序列的定量 real-time RT-PCR 測量，無法偵測到樣本之間的交叉污染。

由於未出現 RT-PCR 抑制且 A_{260}/A_{280} 比值為 1.8 至 2.2，以 PAXgene Blood RNA System 和自動化操作程序可分離出純 RNA。以 beta-actin 基因序列的定量 real-time PCR 測量，所有樣本中 $\geq 95\%$ 的基因體 DNA $\leq 1\%$ (w/w)。圖 13 和 14（第 33 和 34 頁）顯示，由 3 位操作人員以 3 個試劑組批次，使用自動化操作程序製備的總計 216 份樣本，其 A_{260}/A_{280} 比值和相對基因體 DNA。

* 總操作程序運行時間，包括 PAXgene Blood RNA Tube 的前置處理（離心、團塊清洗和團塊重新懸浮）。

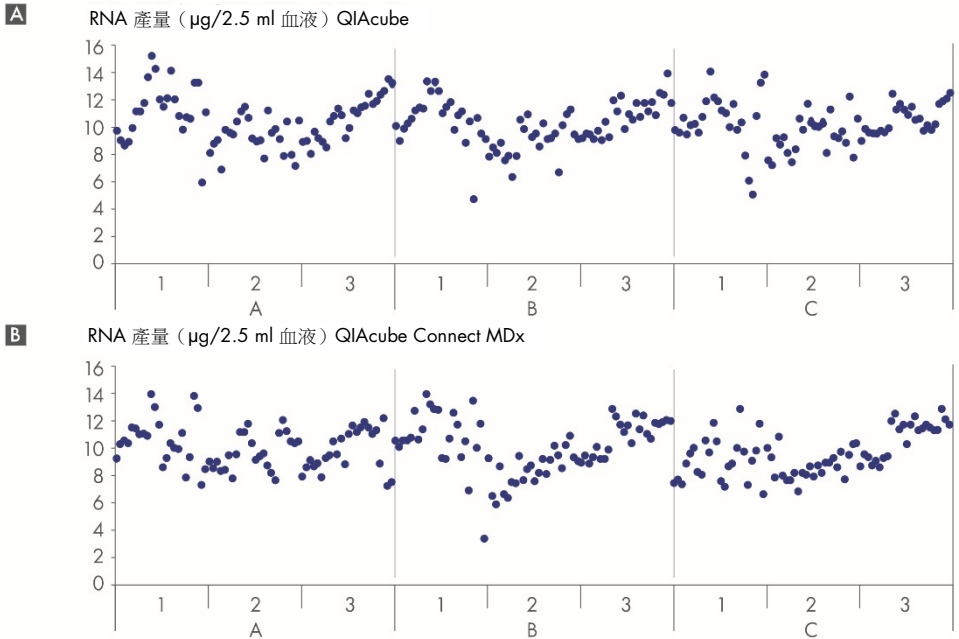


圖 12：RNA 產量 — 自動化處理 A：QIAcube，B：QIAcube Connect MDx。以 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 收集個別捐贈者的血液樣本。將試管內容物合併至 6 個捐贈者合併組，接著重新分裝。3 位不同操作人員 (A、B、C) 總計處理 216 支試管 (亦即每個合併組 36 支)。每位操作人員使用了 3 個不同批次 (1、2、3) 的 PAXgene Blood RNA Kit，以多組 QIAcube 和 QIAcube Connect MDx 儀器進行自動化萃取，並處理 6 個捐贈者合併組中的每份四重複樣本。針對每位操作人員 - 批次組合，呈現所有個別樣本的 RNA 產量。

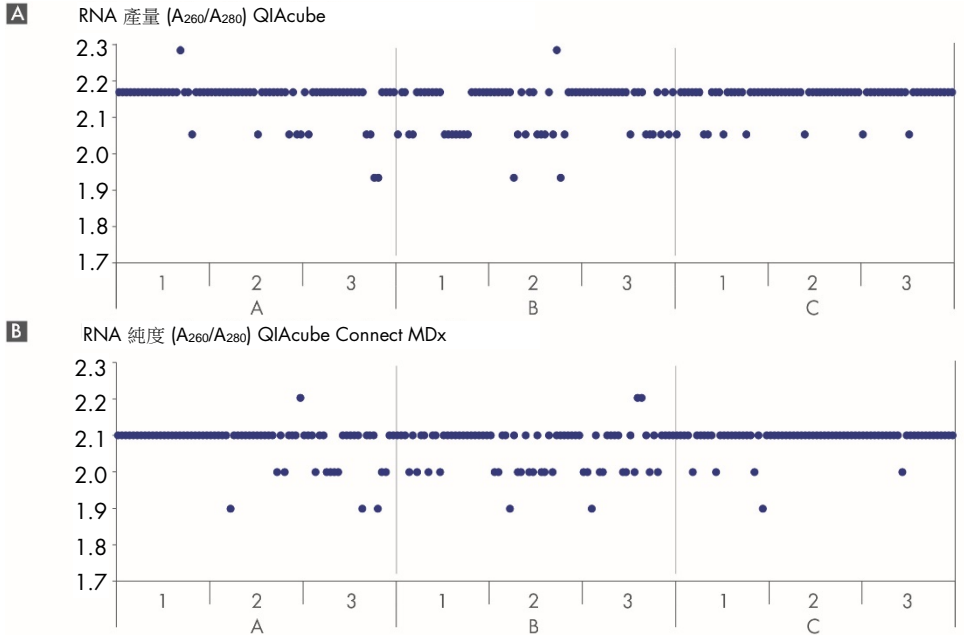


圖 13：RNA 純度 (A_{260}/A_{280} 值) — 自動化處理。 **A：QIAcube**，**B：QIAcube Connect MDx** RNA 由 3 位不同操作人員 (A、B、C) 使用了 3 個不同批次 (1、2、3) 的 PAXgene Blood RNA Kit，以多組 QIAcube 和 QIAcube Connect MDx 儀器，在圖 12 所述的實驗中純化。針對每位操作人員 - 批次組合，呈現所有個別樣本的 A_{260}/A_{280} 比值。

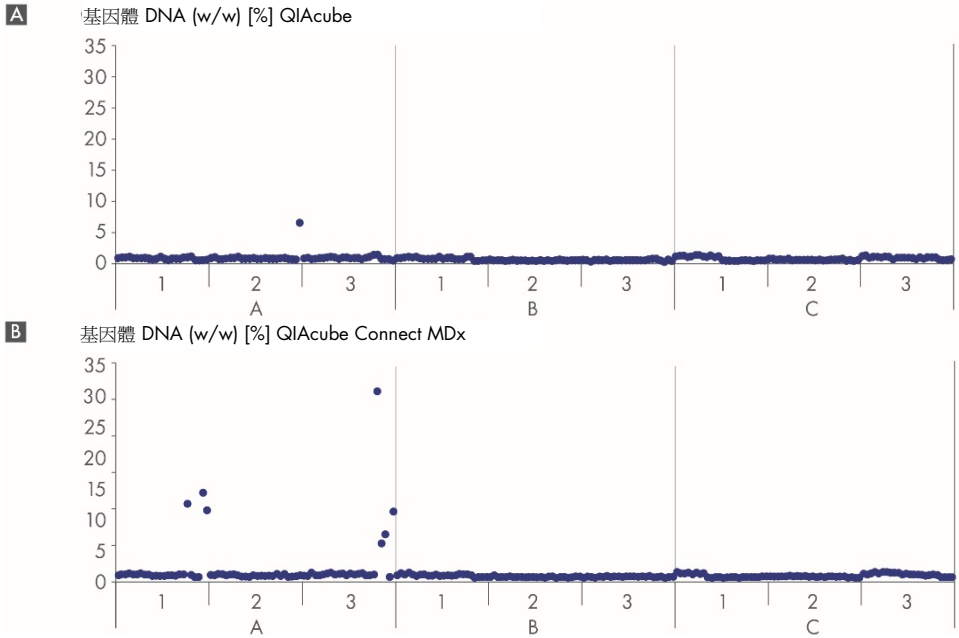


圖 14：RNA 純度（基因體 DNA 污染百分比 [%]）— 自動化處理，A：QIAcube，B：QIAcube Connect MDx。 RNA 由 3 位不同操作人員（A、B、C）使用了 3 個不同批次（1、2、3）的 PAXgene Blood RNA Kit，以多組 QIAcube 和 QIAcube Connect MDx 儀器，在圖 12 所述的實驗中純化。針對每位操作人員 - 批次組合，呈現所有個別樣本的基因體 DNA 含量 (w/w)。

使用 PAXgene Blood RNA System 的自動化 RNA 純化操作程序，提供高度可再現和可重複的 RT-PCR 結果，如圖 15 和圖 16 所示（第 35 和 36 頁），使其用於臨床診斷檢測時具有高度穩健性。

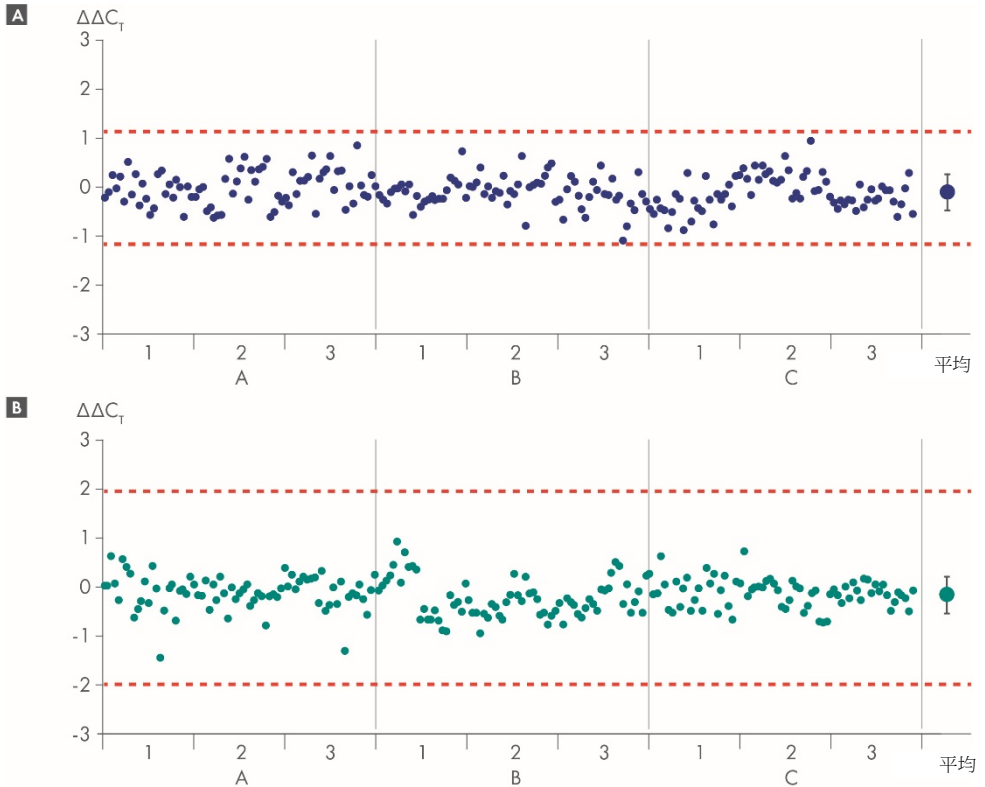


圖 15：RT-PCR 的再現性 — 自動化 (QIAcube) 與手動操作程序之間。 RNA 由 3 位不同操作人員 (A、B、C) 使用了 3 個不同批次 (1、2、3) 的 PAXgene Blood RNA Kit，以多組 QIAcube 和 QIAcube Connect MDx 儀器，在圖 12 所述的實驗中，使用自動化操作程序純化。同時使用手動操作程序，從相應的二重複試管純化 RNA。[A] FOS 和 [B] IL1B 的相對轉錄物濃度以二重複 *real-time* RT-PCR 決定，並使用 18S rRNA 做為內部標準品。使用兩種萃取操作程序 (自動化和手動操作程序)，從成對血液樣本製備 RNA 之間的轉錄物濃度可能差異，以 $\Delta\Delta C_T$ 方法計算。將所有樣本對 (4 次重複 \times 6 個捐贈者合併組 \times 3 個試劑組批次 \times 3 位操作人員 = 每個基因 216 對) 的個別 $\Delta\Delta C_T$ 值繪製為單點，並呈現所有樣本的平均 (較大的點) 和標準差 (黑色線)。虛線表示檢測的 $\pm 3 \times$ 總精確度 (FOS : 1.16 C_T ; IL1B : 1.98 C_T ; 相較於圖 1 - 4、8 和 9，因不同檢測版本造成的不同檢測精確度)。

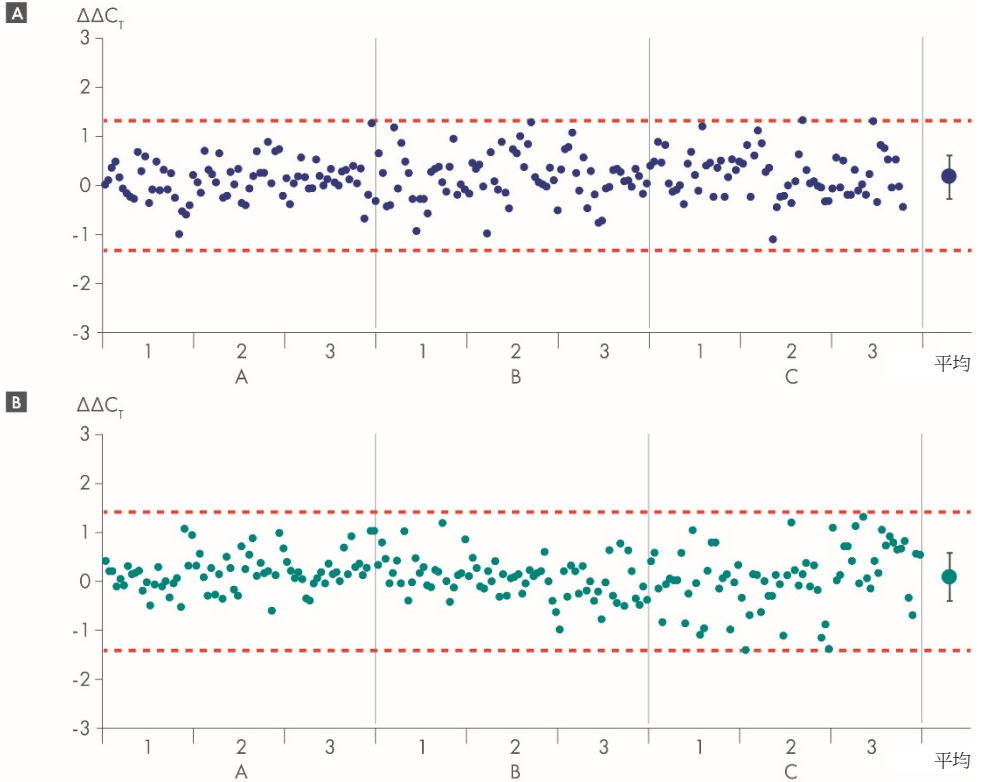


圖 16：RT-PCR 的再現性 — QIAcube 與 QIAcube Connect MDx 之間使用自動化操作程序。RNA 由 3 位不同操作人員 (A、B、C) 使用了 3 個不同批次 (1、2、3) 的 PAXgene Blood RNA Kit，以多組 QIAcube 和 QIAcube Connect MDx 儀器，在圖 12 所述的實驗中，使用自動化操作程序純化。**[A]** FOS 和 **[B]** IL1B 的相對轉錄物濃度以二重複 real-time RT-PCR 決定，並使用 18S rRNA 做為內部標準品。使用兩種儀器，從成對血液樣本製備 RNA 之間的轉錄物濃度可能差異，以 $\Delta\Delta C_T$ 方法計算。將所有樣本對 (4 次重複 \times 6 個捐贈者合併組 \times 3 個試劑組批次 \times 3 位操作人員 = 每個基因 216 對) 的個別 $\Delta\Delta C_T$ 值繪製為單點，並呈現所有樣本的平均 (較大的點) 和標準差 (黑色線)。虛線表示檢測的 $\pm 3\times$ 總精確度 (FOS: 1.30 C_T ; IL1B: 1.42 C_T ; 相較於圖 1 - 4、8、9 和 15，因不同檢測版本造成的不同檢測精確度)。

使用者應自備的設備及試劑

在操作化學物質時，務必穿戴合適的實驗室工作服、拋棄式手套和護目鏡。如需瞭解更多資訊，請參閱相應的安全資料表 (Safety Data Sheets, SDS)，其可從產品供應商處獲得。

對於所有操作程序

- PAXgene Blood RNA Tubes (BRT, PreAnalytiX；產品編號 762165)
- 乙醇 (96 – 100%, p.a. 純度等級)
- 移液滴管 * (10 µl – 4 ml)
- 無菌、可阻隔氣霧的無 RNase 滴管吸頭 †
- 量筒 ‡
- 可達到 3000 – 5000 x g 的離心機*，並配備旋翼式轉子及吊桶，以固定 PAXgene Blood RNA Tubes (BRT)
- 振盪混合器*
- 碎冰
- 用於標示的永久性標記筆

對於手動操作程序

- 可變轉速的微量離心機*，能夠達到至少 1000 – 8000 x g 的範圍，不過較低和較高的 g 力也適用（詳細資訊請參閱操作程序步驟），並配備適用於 2 ml 微量離心管的轉子
- 能夠在 55°C 和 65°C 靜置的振盪器 – 保溫箱 §，並在 ≥400 rpm，不超過 1400 rpm 下振盪（例如 Eppendorf® Thermomixer Compact 或相當產品）

* 確認器材和儀器依據製造商建議定期檢查、維護和校準。

† 確保您熟悉處理 RNA 的準則（第 67 頁的附錄 A）。

‡ 用於將乙醇加入緩衝液 BR4 濃縮液。

§ 確認器材和儀器依據製造商建議定期檢查、維護和校準。

對於自動化操作程序（使用 **QIAcube** 或 **QIAcube Connect MDx**）

- 剪刀

QIAcube 儀器耗材：

- Filter-Tips, 1000 µl (1024) (QIAGEN, 產品編號 990352) *
- Reagent Bottles, 30 ml (6) (QIAGEN, 產品編號 990393) †
- Rotor Adapters (10 x 24) (QIAGEN, 產品編號 990394) †

QIAcube 儀器配件：

- Rotor Adapter Holder (QIAGEN, 產品編號 990392) †

對於使用 **QIAcube Connect MDx** 的自動化操作程序

- QIAcube Connect MDx* (QIAGEN, 產品編號 9003070)

QIAcube Connect MDx 附加服務：

- QIAcube Connect MDx System FUL-2 (QIAGEN, 產品編號 9003071)
- QIAcube Connect MDx System FUL-3 (QIAGEN, 產品編號 9003072)
- QIAcube Connect MDx System PRV-1 (QIAGEN, 產品編號 9003073)
- QIAcube Connect MDx Device PRV-1 (QIAGEN, 產品編號 9003074)
- QIAcube Connect MDx System PRM-1 (QIAGEN, 產品編號 9003075)

對於使用 **QIAcube** 的自動化操作程序

- QIAcube† (QIAGEN, 產品編號 9001882 [110 V])

* 也包含在 Starter Pack, QIAcube 內 (QIAGEN, 產品編號 990395)。

† 確認器材和儀器依據製造商建議定期檢查、維護和校準。

重要須知

使用 QIAcube 儀器

確保您熟悉 QIAcube 儀器的操作。開始自動化 PAXgene Blood RNA 操作程序之前，請閱讀適當的 QIAcube 儀器使用者手冊，和 QIAcube 儀器隨附的任何額外資訊，特別注意安全資訊。

若未另行說明，本節中的儀器可適用於 QIAcube Connect MDx 及 QIAcube。

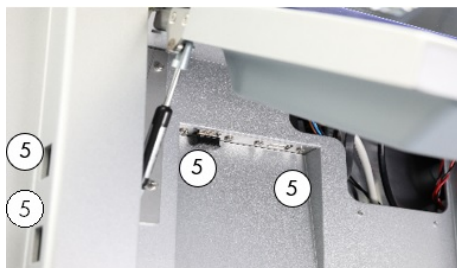
啟動 QIAcube 儀器

關閉 QIAcube 儀器護罩，並開啟 QIAcube 儀器電源開關（QIAcube Connect MDx：請參閱第 40 頁的圖 17；QIAcube：第 41 頁的圖 18）。

會發出嗶聲並出現開機畫面。儀器會自動進行初始化測試。



QIAcube Connect MDx 的前視圖



拉出觸控式螢幕



QIAcube Connect MDx 的後視圖



QIAcube Connect MDx 的後視圖

圖 17：QIAcube Connect MDx 的外部特性。

- | | |
|---|---|
| <p>① 觸控式螢幕</p> <p>② 護罩</p> <p>③ 「Waste」(廢棄物) 抽屜</p> <p>④ 電源開關</p> | <p>⑤ 觸控式螢幕左側 2 個 USB 連接埠；觸控式螢幕後方 2 個 USB 連接埠 (Wi-Fi 模組插入 1 個 USB 連接埠)</p> <p>⑥ RJ-45 乙太網路連接埠</p> <p>⑦ 電源線插座</p> <p>⑧ 冷卻空氣出口</p> |
|---|---|



圖 18 : QIAcube 的前視圖。

- | | | | |
|---|--|---|-----------------|
| ① | 觸控式螢幕 | ④ | 保護面板後方的 USB 連接埠 |
| ② | 護罩 | ⑤ | 電源開關 |
| ③ | 保護面板後方的 RS232 序列連接埠 (僅供 QIAGEN 儀器服務專員使用) | ⑥ | 「Waste」(廢棄物) 抽屜 |

觸控式螢幕

QIAcube 儀器係採用觸控式螢幕控制。觸控式螢幕可讓使用者操作儀器，並指引使用者進行工作台設定。在樣本處理期間，觸控式螢幕會顯示操作程序狀態和剩餘時間。

圖 19：QIAcube Connect MDx 的拉出觸控式螢幕



在 QIAcube 儀器上安裝操作程序

可能需要先安裝操作程序，才能在 QIAcube 儀器上進行首次 RNA 製備運行。「PAXgene Blood RNA Part A」和「PAXgene Blood RNA Part B」操作程序皆需安裝。

適用於 QIAcube Connect MDx 的操作程序，請至 www.qiagen.com/products/diagnostics-and-clinical-research/solutions-for-laboratory-developed-tests/qiacube-connect-mdx/#resources 下載（適用於 QIAcube 者請至 www.qiagen.com/MyQIAcube），且需下載至 QIAcube 儀器隨附的 USB 隨身碟。這些操作程序將經由 USB 連接埠傳送至儀器。

USB 連接埠（QIAcube Connect MDx：位於觸控式螢幕側邊，請參閱第 40 頁的圖 17；QIAcube：位於保護面板後方，請參閱第 41 頁的圖 18）可將 QIAcube 儀器連接至 QIAcube 儀器隨附的 USB 隨身碟。資料檔案（例如日誌檔案或報告檔案）也可經由 USB 連接埠，從 QIAcube 儀器傳送至 USB 隨身碟。



USB 連接埠僅能搭配 QIAGEN 提供的 USB 隨身碟使用。請勿將其他器材連接至此連接埠。



下載操作程序、傳輸資料檔案或操作程序運行期間，請勿移除 USB 隨身碟。

將操作程序上傳至 QIAcube 儀器過程的詳細資訊，請參閱使用儀器的相關使用手冊。

裝載 QIAcube 儀器

為了節省時間，可在第 58 頁「操作程序：從收集至 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 的人類全血，自動化純化總 RNA」的兩個 10 分鐘離心步驟（步驟 3 和 5）或其中之一進行裝載。

試劑瓶

每次在 QIAcube 儀器上運行之前，以表 3（第 44 頁）所列試劑將 4 個試劑瓶謹慎填滿至最高指示液位，或如果無法辦到，就填滿至 PAXgene Blood RNA Kit 中隨附緩衝液體積允許的液位。以緩衝液名稱清楚標示瓶子和蓋子，並將填滿的試劑瓶放入試劑瓶架上的適當位置。如圖所示，將架子裝載至 QIAcube 儀器工作台（第 44 - 46 頁的圖 20 - 22）。



提供的緩衝液 BR2 體積無法將試劑瓶填滿至指示液位。緩衝液 BR3 和 BR4 在先前運行處理多份樣本後，可能無法將瓶子填滿至指示液位。



放到工作台上之前，務必從瓶子取下蓋子。



PAXgene Blood RNA Kit (50) 中提供的緩衝液體積，足以在 QIAcube 儀器上，針對每次運行 2 至 12 份樣本，進行最多 7 次 RNA 製備運行。一般而言，應避免較少樣本數的運行，以便以最多 7 次 RNA 製備運行，處理每個試劑組總計 50 份樣本。超過 7 次 RNA 製備運行，可能造成緩衝液體積不足以處理最後的樣本。

表 3：試劑瓶架內的位置

位置	試劑
1	結合緩衝液 (BR2)
2	96-100% 乙醇
3	清洗緩衝液 1 (BR3)
4	清洗緩衝液 2 (BR4)*
5	- (留空)
6	- (留空)

* 清洗緩衝液 2 (BR4) 為濃縮液。首次使用前，請依瓶身的說明加入 4 倍體積的乙醇（96 - 100%，p.a. 純度等級），以製備工作溶液。

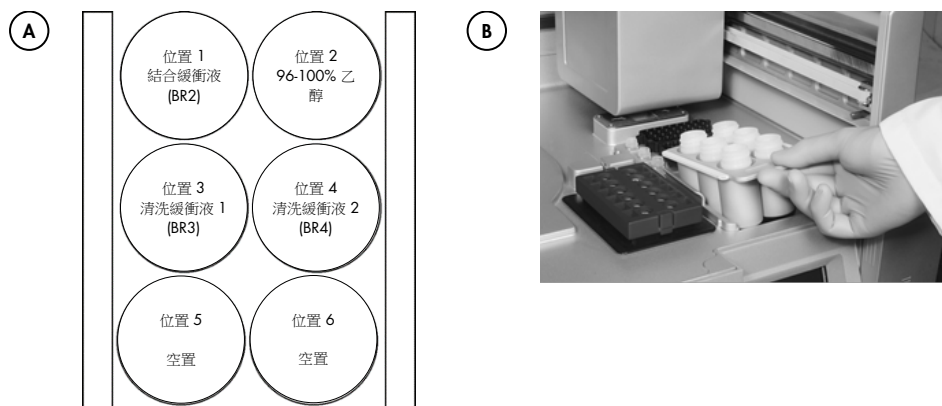


圖 20：裝載試劑瓶架。[A] 試劑瓶架內的瓶子位置和內容物略圖。[B] 裝載架子到 QIAcube 儀器（顯示 QIAcube 做為範例）。

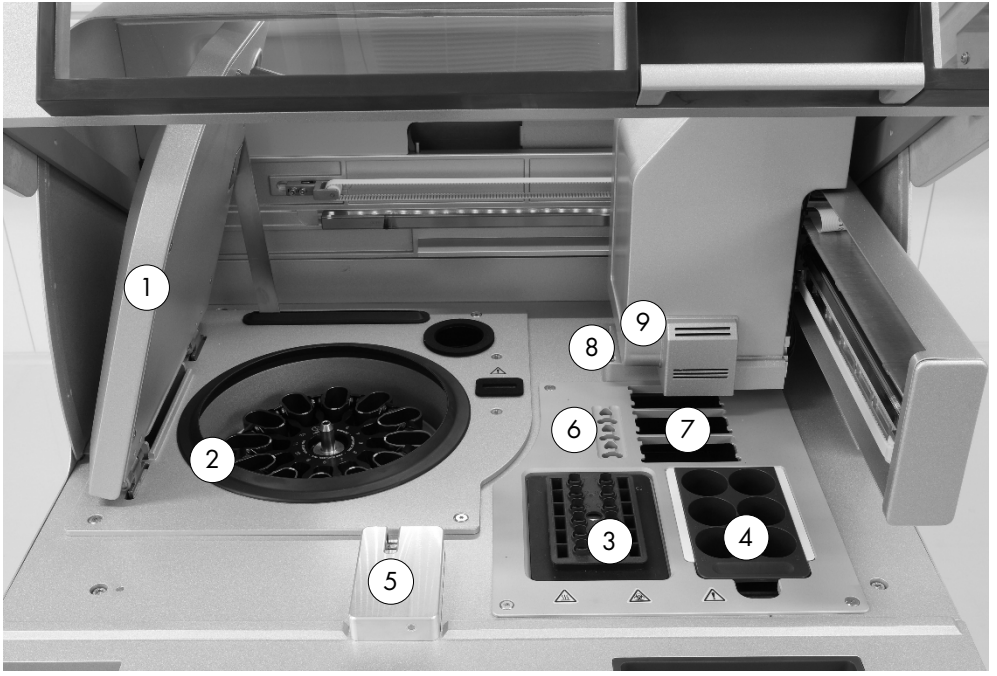


圖 21 : QIAcube Connect MDx 的內部視圖。

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ① 離心機蓋 ② 離心機 ③ 振盪器 ④ 試劑瓶架 ⑤ 吸頭感測器和護罩鎖 | <ul style="list-style-type: none"> ⑥ 微量離心管槽 ⑦ 吸頭架的 3 個槽 ⑧ 吸頭和管柱的棄置槽 ⑨ 機械臂 (包括 1 個通道微量滴管、抓取鉗、超音波、光學感測器和 UV LED) |
|---|--|

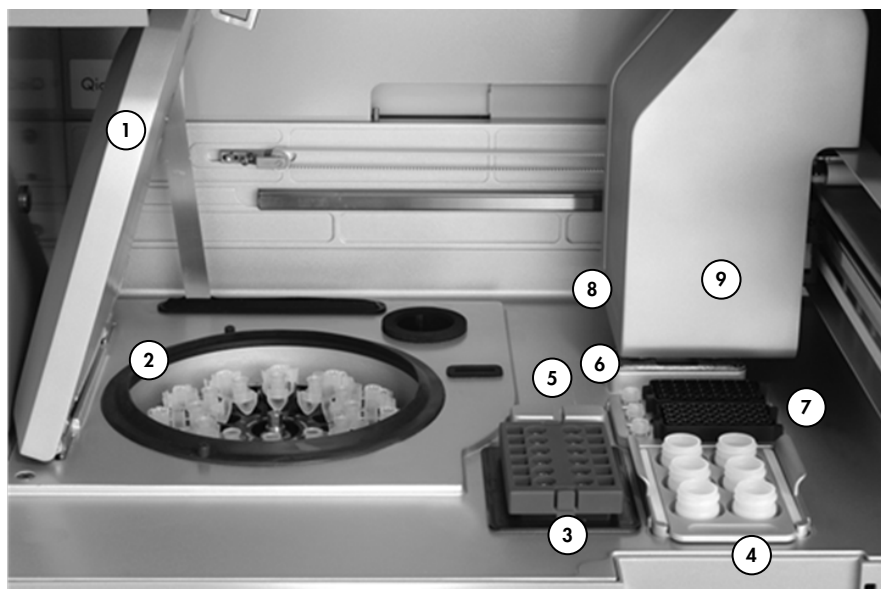


圖 22 : QIAcube 的內部視圖。

- | | |
|---------|-------------|
| ① 離心機蓋 | ⑥ 微量離心管槽 |
| ② 離心機 | ⑦ 吸頭架 |
| ③ 振盪器 | ⑧ 吸頭和管柱的棄置槽 |
| ④ 試劑瓶架 | ⑨ 機械臂 |
| ⑤ 吸頭感測器 | |

管柱 (PRC, PSC)、微量離心管 (MCT) 和 QIAcube 儀器塑膠用品

將裝滿 Filter-Tips 1000 µl 的 2 個吸頭架放入 QIAcube 儀器 (請參閱第 45 和 46 頁的圖 21 和 22)。必要時以吸頭重新裝滿架子。



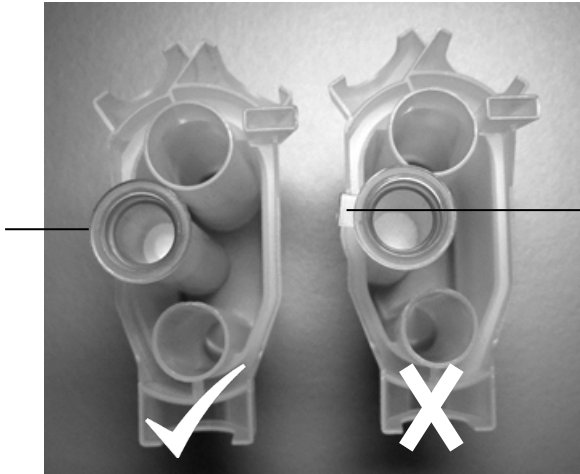
僅使用專門設計搭配 QIAcube 儀器的 1000 µl 過濾吸頭。

使用永久性標記筆，針對每份樣本標記轉子轉接器和微量離心管 (MCT)。打開要使用的 PAXgene Shredder 管柱 (PSC)，並使用剪刀將蓋子完全剪掉 (請參閱第 47 頁的圖 23)。



為了正確操作 QIAcube 儀器機械臂抓取鉗，要完全移除 (剪掉) 蓋子和連接至 PAXgene Shredder 管柱 (PSC) 蓋子的所有塑膠零件 (請參閱圖 23)。否則，機械臂抓取鉗無法正確抓接管柱 (PSC、PRC)。

管柱蓋正
確移除



管柱蓋未正
確移除；部
分蓋子仍然
連接

圖 23：裝載 PAXgene Shredder 管柱 (PSC)。 PAXgene Shredder 管柱 (PSC) 已裝載至轉子轉接器的中間位置。裝載管柱前剪掉蓋子。

裝載 PAXgene RNA 管柱 (PRC)、PAXgene Shredder 管柱 (PSC；不含蓋，請參閱第 47 頁的圖 23)，並標記微量離心管到每個標記轉子轉接器的適當位置內，如表 4 和圖 24 所示。



確認管柱 (PRC) 和微量離心管 (MCT) 蓋，在轉子轉接器邊緣的槽底部推到底，否則離心期間蓋子會斷裂。

表 4：轉子轉接器內的實驗室用品

位置	試劑	蓋子位置
1	PAXgene RNA 管柱 (紅色, PRC)	L1
2	PAXgene Shredder 管柱 (紫丁香色, PSC) (放入轉子轉接器之前剪斷蓋子)	-
3	微量離心管 (MCT)*	L3

* 使用 PAXgene Blood RNA Kit 內含的微量離心管 (MCT; 1.5 ml)。

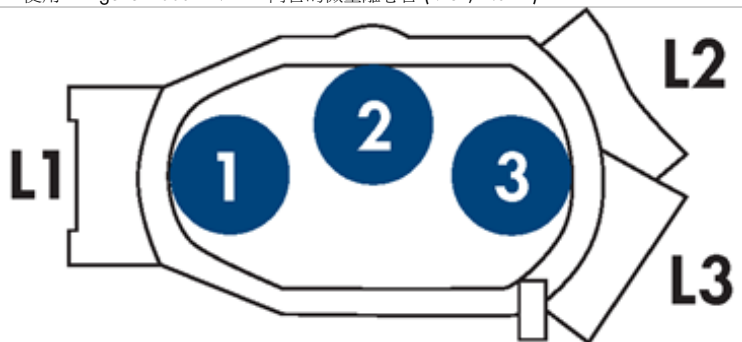


圖 24：轉子轉接器內的位置。轉子轉接器有三個試管位置 (1 - 3) 和三個蓋子位置 (L1 - L3)。

裝載離心機

將組裝好的轉子轉接器裝載至離心筒內，如下方圖 25 所示。



如果處理少於 12 份樣本，確保以軸向平衡方式裝載離心機轉子（請參閱第 50 頁的圖 26）。即使將處理少於 12 份樣本，開始操作程序運行之前，必須裝好所有離心機筒。無法處理單一（一份）樣本或 11 份樣本。



圖 25：裝載 QIAcube 儀器的離心機。將組裝好的轉子轉接器裝載至離心筒內（顯示 QIAcube Connect MDx 做為範例）。

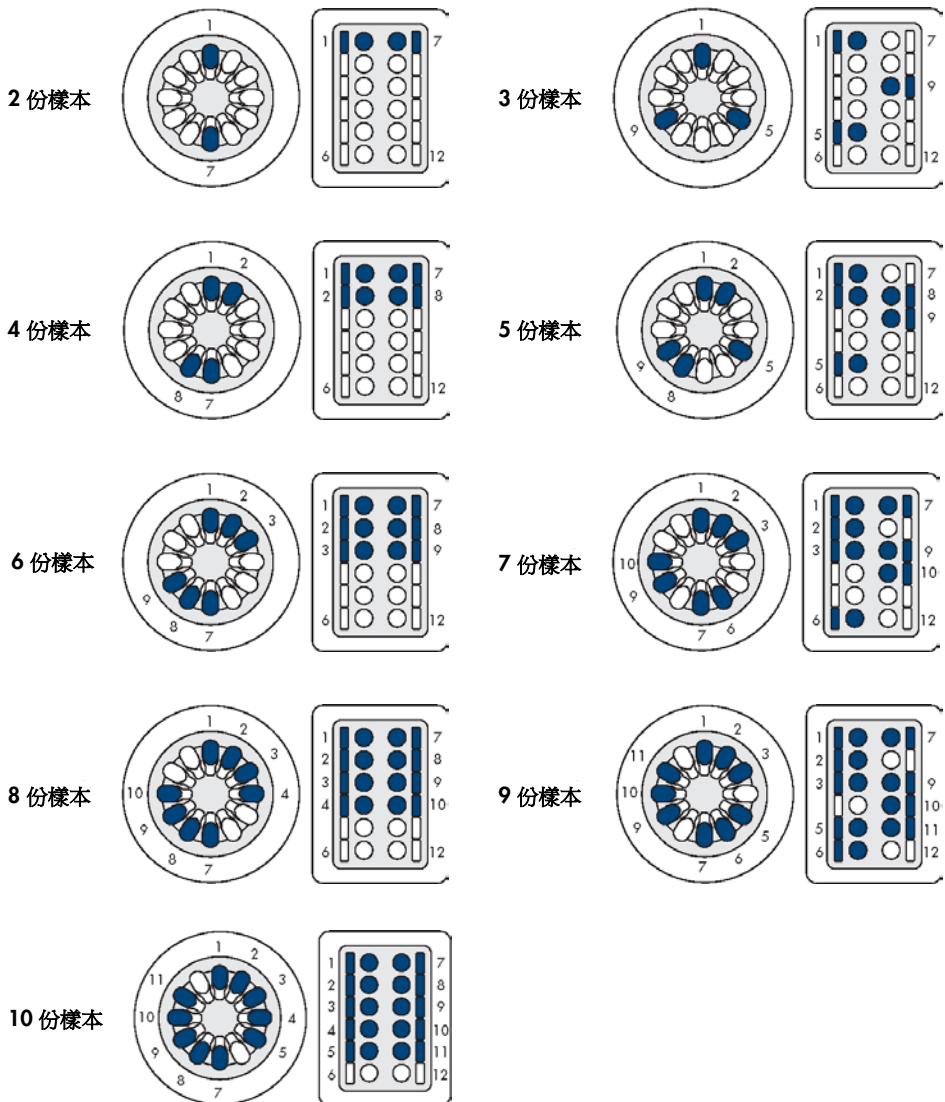


圖 26：裝載離心機和振盪器。顯示處理兩份 (2) 到十份 (10) 樣本的離心機和振盪器位置。無法處理一份 (1) 或 11 份樣本。處理 12 份樣本時，會裝載所有離心機和振盪器位置（未顯示圖片）。

處理試管 (PT)

取出先前運行中，微量離心管槽內剩餘的任何處理試管 (PT) (QIAcube Connect MDx：請參閱第 45 頁的圖 21；QIAcube：請參閱第 46 頁的圖 22)。依據運行中的樣本數量，將 3 支處理試管 (PT) 填充表 5 所列的試劑數量。

對於 DNase I 靜置混合物，將指定體積的 DNA 消化緩衝液 (RDD) 移入處理試管 (PT)，並加入指定體積的 DNase I (RNFD) 原液。透過使用 1000 µl 滴管吸頭，將整份混合液上下抽吸 3 次以輕輕混合。

使用 PAXgene Blood RNA Kit 內含的 2 ml 處理試管 (PT)。以試劑名稱清楚標示試管，並將其放入微量離心管槽內的適當位置，如表 6 (第 52 頁) 所示。



DNase I (RNFD) 對物理變性特別敏感。僅使用滴管抽吸混合，使用寬孔滴管吸頭以減少剪力。請勿振盪。



務必僅依據下面表 5 所示抽吸所需的體積。

表 5：微量離心管槽之處理試管所需的試劑體積。

樣本數量	指定樣本數量的試劑體積 (µl)		
	蛋白酶 K (PK)	DNase I 靜置混合物	析出緩衝液 (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

表 6：微量離心管槽

	位置		
	A	B	C
內容物	蛋白酶 K	DNase I 靜置混合物	析出緩衝液 (BR5)
容器	處理試管 (PT)*	處理試管 (PT)*	處理試管 (PT)*

* 使用 PAXgene Blood RNA Kit 內含的 2 ml 處理試管。

操作程序：從收集至 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 的人類全血，手動純化總 RNA

開始前要點

- 確認試劑組外盒完好未損壞，且緩衝液未洩漏。請勿使用損壞的試劑組。
- 使用滴管時，確認設定至正確體積，且液體小心且完全抽吸和分注。
- 為了避免轉移樣本到錯誤的試管或管柱，確認所有試管和管柱都使用永久性標記筆正確標示。標示每支試管 (PT, MCT) 的蓋子和本體。對於管柱，標示其處理試管 (PT) 的本體。將液體轉移進入後，封閉每支試管或管柱。
- 程序期間樣本和緩衝液溢出，可能會降低 RNA 的產量和純度。
- 除非另行說明，此操作程序的所有步驟，包括離心步驟，皆應在室溫下 (15 – 25°C) 進行。

由於核酸擴增技術的靈敏度，處理樣本時應採取下列預防措施，以避免交叉污染：

- 將樣本小心移入管柱 (PRC, PSC) 而不要沾濕管柱邊緣。
- 轉移液體之間務必更換滴管吸頭。使用可阻隔氣霧的滴管吸頭。
- 避免滴管吸頭接觸到管柱 (PRC, PSC) 膜。
- 振盪或加熱微量離心管 (MCT) 後，短暫離心以去除蓋子內側的液滴。
- 整個程序期間皆穿戴手套。若手套接觸到樣本，立即更換手套。
- 先封閉管柱 (PRC, PSC)，再將其放入微量離心機。依據程序所述離心。
- 一次僅打開一個管柱 (PRC, PSC)，並小心避免產生氣霧。
- 為了有效率處理多份樣本，以處理試管 (PT) 裝滿一個架子，可在離心後用於轉移管柱 (PRC, PSC)。棄置含流經液體的使用過處理試管 (PT)，並將含管柱 (PRC, PSC) 的新處理試管 (PT) 直接放入微量離心機。

開始前需完成的事項

- 必須依據 *PAXgene Blood RNA Tube 使用手冊* 中的說明，將血液收集至 PAXgene Blood RNA Tubes (BRT)。如果必要可參閱附錄 C (第 69 頁) 中，有關處理 PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) 的建議。
- 確認收集血液後，將 PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) 在室溫下靜置至少 2 小時，以確保血球細胞完全溶解。PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 靜置隔夜可能會增加產量。如果血液收集後，PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 儲存在 2 – 8°C、– 20°C 或 – 70°C 下，先在室溫下回溫，然後在室溫下儲存 2 小時，再開始程序。
- 閱讀第 9 頁上的安全資訊。
- 閱讀處理 RNA 的準則 (第 66 頁的附錄 A)。
- 確認儀器 (例如滴管和振盪器 – 保溫箱) 已依據製造商建議定期檢查和校準。
- 步驟 5 和 20 需要振盪器 – 保溫箱。將振盪器 – 保溫箱的溫度設為 55°C 度。
- 結合緩衝液 (BR2) 可能在儲存期間形成沉澱物。如果需要，加溫到 37°C 以溶解。
- 清洗緩衝液 2 (BR4) 為濃縮液。首次使用前，請依瓶身的說明加入 4 倍體積的乙醇 (96 – 100%，p.a. 純度等級)，以製備工作溶液。
- 如果首次使用 RNase-Free DNase Set，製備 DNase I 原液。將固態 DNase I (RNFD；1500 Kunitz 單位) * 溶於套組隨附的 550 µl DNase 重新懸浮緩衝液 (DRB)。打開瓶子時，小心不要損失 DNase I (RNFD)。請勿振盪配製好的 DNase I (RNFD)。DNase I 對物理變性非常敏感。僅應以輕輕倒置玻璃瓶的方式混合。
- 目前的資料顯示，配製好的 DNase I (RNFD) 可在 2 – 8°C 下儲存最多 6 週。若要長期儲存 DNase I (RNFD)，從玻璃瓶取出原液，分裝為單次使用等分 (使用試劑組隨附的 1.5 ml 微量離心管 [MCT]；足夠分為 5 份) 並在 – 20°C 下儲存最多 9 個月。解凍後的分裝等分可在 2 – 8°C 下最多儲存 6 週。請勿在解凍後重新冷凍分裝等分。
- 配製和分裝 DNase I (RNFD) 時，確保遵循處理 RNA 的準則 (第 66 頁的附錄 A)。

* Kunitz 單位是常用於測量 DNase I 的單位，定義為在 25°C、pH 5.0 條件下，使用高度聚合 DNA 做為受質，造成 A₂₆₀ 吸光值每毫升每分鐘增加 0.001 的 DNase I 含量 (Kunitz, M. (1950) J. Gen.Physiol. **33**, 349 和 363)。

程序

1. 使用旋翼式轉子，將 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 以 3000 – 5000 x g 離心 10 分鐘。



確保血液樣本已在 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 內，於室溫下 (15 – 25°C) 靜置至少 2 小時，以達成血球細胞完全溶解。



轉子必須包含用於圓底試管的試管轉接器。如果使用其他類型的試管轉接器，離心期間試管可能會破裂。

2. 透過傾倒或抽吸移除上清液。將 4 ml 無 RNase 水 (RNFw) 加入團塊，並使用新的二次 BD Hemogard 封閉蓋 (隨試劑組提供) 封閉試管。

如果傾倒上清液，小心不要擾動團塊，並以乾淨的紙巾擦乾試管邊緣。

3. 振盪直到團塊明顯溶解，並使用旋翼式轉子以 3000 – 5000 x g 離心 10 分鐘。移除並棄置全部上清液。

振盪後但離心前上清液內殘留的小碎屑，不會影響程序。



未完全去除上清液，將抑制溶解並稀釋溶胞物，且因此會影響 RNA 與 PAXgene 膜結合的條件。

4. 加入 350 µl 重新懸浮緩衝液 (BR1) 並振盪，直到團塊明顯溶解為止。

5. 抽吸樣本進入 1.5 ml 微量離心管 (MCT)。加入 300 µl 結合緩衝液 (BR2) 和 40 µl 蛋白酶 K (PK)。使用振盪器 - 保溫箱，在 400 – 1400 rpm 下振盪 5 秒，並在 55°C 下靜置 10 分鐘。靜置後，將振盪器 - 保溫箱的溫度設為 65°C (用於步驟 20)。



加入樣本之前，請勿將結合緩衝液 (BR2) 和蛋白酶 K (PK) 混合在一起。

6. 將溶胞物直接移入 PAXgene Shredder 管柱 (PSC; 紫丁香色)，置於 2 ml 處理試管 (PT) 內，並以最大轉速 (但不超過 20,000 x g) 離心 3 分鐘。



小心將溶胞物移入管柱 (PSC)，並目視檢查溶胞物已完全轉移至管柱 (PSC)。

為了防止管柱 (PSC) 和試管 (PT) 損壞，請勿超過 20,000 x g。



部分樣本可能會流經 PAXgene Shredder 管柱 (PSC) 而未離心。這是因為部分樣本的黏性低，且不應視為產品失效。

- 小心將流經液體部分的全部上清液，轉移至新的 1.5 ml 微量離心管 (MCT)，而不要擾動處理試管內的團塊。
- 加入 350 μ l 乙醇 (96 – 100%，p.a. 純度等級)。振盪混合並短暫離心 (500 – 1000 \times g 下 1 – 2 秒)，以去除試管蓋內側的液滴。



離心時間不得超過 1 – 2 秒，因為這可能會導致核酸結塊並減少總 RNA 的產量。

- 抽吸 700 μ l 樣本至 PAXgene RNA 管柱 (PRC；紅色)，置於 2 ml 處理試管 (PT) 內並在 8000 – 20,000 \times g 下離心 1 分鐘。將管柱 (PRC) 放入新的 2 ml 處理試管 (PT)，並棄置含流經液體的舊處理試管 (PT)。
- 抽吸剩餘的樣本至 PAXgene RNA 管柱 (PRC) 內，並在 8000 – 20,000 \times g 下離心 1 分鐘。將管柱 (PRC) 放入新的 2 ml 處理試管 (PT)，並棄置含流經液體的舊處理試管 (PT)。



小心將樣本移入管柱 (PRC)，並目視檢查樣本已完全轉移至管柱 (PRC)。

- 抽吸 350 μ l 清洗緩衝液 1 (BR3) 至 PAXgene RNA 管柱 (PRC)。在 8000 – 20,000 \times g 下離心 1 分鐘。將管柱 (PRC) 放入新的 2 ml 處理試管 (PT)，並棄置含流經液體的舊處理試管 (PT)。
- 在 1.5 ml 微量離心管 (MCT) 內，將 10 μ l DNase I (RNFD) 原液加入 70 μ l DNA 消化緩衝液 (RDD)。輕彈試管輕輕混合，並簡短離心以收集試管側邊的殘留液體。
例如如果處理 10 份樣本，將 100 μ l DNase I (RNFD) 原液加入 700 μ l DNA 消化緩衝液 (RDD)。使用試劑組隨附的 1.5 ml 微量離心管 (MCT)。



DNase I 對物理變性非常敏感。僅應輕敲試管以混合。請勿振盪。

- 直接抽吸 DNase I (RNFD) 靜置混合物 (80 μ l) 至 PAXgene RNA 管柱 (PRC) 膜上，放在桌上 (20 – 30°C) 持續 15 分鐘。



確保 DNase I (RNFD) 靜置混合物直接放到膜上。如果僅施用部分混合物且留在管柱 (PRC) 的 O 形環上，DNase 消化將不完全。

- 抽吸 350 μ l 清洗緩衝液 1 (BR3) 至 PAXgene RNA 管柱 (PRC) 內，並在 8000 – 20,000 \times g 下離心 1 分鐘。將管柱 (PRC) 放入新的 2 ml 處理試管 (PT)，並棄置含流經液體的舊處理試管 (PT)。

15. 抽吸 500 μ l 清洗緩衝液 2 (BR4) 至 PAXgene RNA 管柱 (PRC) 內，並在 8000 – 20,000 \times g 下離心 1 分鐘。將管柱 (PRC) 放入新的 2 ml 處理試管 (PT)，並棄置含流經液體的舊處理試管 (PT)。



清洗緩衝液 2 (BR4) 為濃縮液。確認使用前將乙醇加入清洗緩衝液 2 (BR4) (請參閱第 54 頁的「開始前需完成的事項」)。

16. 將另外 500 μ l 清洗緩衝液 2 (BR4) 加入 PAXgene RNA 管柱 (PRC)。在 8000 – 20,000 \times g 下離心 3 分鐘。

17. 棄置含流經液體的處理試管 (PT)，並將 PAXgene RNA 管柱 (PRC) 放入新的 2 ml 處理試管 (PT)。在 8000 – 20,000 \times g 下離心 1 分鐘。

18. 棄置含流經液體的處理試管 (PT)。將 PAXgene RNA 管柱 (PRC) 放入 1.5 ml 微量離心管 (MCT)，並直接抽吸 40 μ l 析出緩衝液 (BR5) 至 PAXgene RNA 管柱 (PRC) 膜上。在 8000 – 20,000 \times g 下離心 1 分鐘以析出 RNA。

務必以析出緩衝液 (BR5) 沾濕整個膜，以達到最大析出效率。

19. 使用 40 μ l 析出緩衝液 (BR5) 和相同的微量離心管 (MCT)，重複所述析出步驟 (步驟 18)。

20. 在振盪器 – 保溫箱內，將析出液在 65°C 下 (來自步驟 5) 靜置 5 分鐘，而不要振盪。靜置後，立即放在冰上冷卻。

在 65°C 靜置，會讓 RNA 變性以使用於下游應用。不要超出靜置時間或溫度。

21. 如果不會立即使用 RNA 樣本，在 -20°C 或 -70°C 下儲存。

由於重複冷凍和解凍後，RNA 會維持變性，不需要重複在 65°C 下靜置。如果在診斷檢測中使用 RNA 樣本，遵循製造商提供的說明。

為了透過 260 nm 下的吸光值準確定量 RNA，我們建議以 10 mM Tris-HCl, pH 7.5 稀釋樣本。*在無 RNase 水中稀釋樣本，可能會導致不準確的低數值。

使用和將測量樣本比例相同的空白析出緩衝液 (BR5) 和 Tris-HCl 緩衝液，將分光光度計歸零。析出緩衝液 (BR5) 在 220 nm 下具有高吸光值，如果分光光度計並未適當歸零，可能會導致高背景吸光值。



有關 Tris HCl 緩衝液中的定量，使用下列關係： $A_{260} = 1 \Rightarrow 44 \mu\text{g/ml}$ 。參閱第 67 頁的附錄 B。

* 在操作化學物質時，務必穿戴合適的實驗室工作服、拋棄式手套和護目鏡。如需瞭解更多資訊，請參閱相應的安全資料表 (Safety Data Sheets, SDS)，其可從產品供應商處獲得。

操作程序：從收集至 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 的人類全血，自動化純化總 RNA

開始前要點

- 確認試劑組外盒完好未損壞，且緩衝液未洩漏。請勿使用損壞的試劑組。
- 使用滴管時，確認設定至正確體積，且液體小心且完全抽吸和分注。
- 為了避免轉移樣本到錯誤的試管和塑膠消耗用品，確認所有處理試管 (PT)、微量離心管 (MCT) 和轉子轉接器都使用永久性標記筆正確標示。標示每支微量離心管 (MCT) 的蓋子和本體、每支處理試管 (PT) 的本體和每個轉子轉接器的外壁。
- 程序期間樣本和緩衝液溢出，可能會降低 RNA 的產量和純度。
- 除非另行說明，此操作程序的所有步驟，包括離心步驟，皆應在室溫下 (15 – 25°C) 進行。

由於核酸擴增技術的靈敏度，處理樣本時應採取下列預防措施，以避免交叉污染：

- 將樣本小心抽吸到處理試管 (PT)，到試管底部而不要沾濕試管邊緣。
- 轉移液體之間務必更換滴管吸頭。使用可阻隔氣霧的滴管吸頭。
- 避免滴管吸頭接觸到管柱 (PRC, PSC) 膜。
- 振盪或加熱微量離心管 (MCT) 後，短暫離心以去除蓋子內側的液滴。
- 整個程序期間皆穿戴手套。若手套接觸到樣本，立即更換手套。

開始前需完成的事項

- 必須依據 *PAXgene Blood RNA Tube 使用手冊* 中的說明，將血液收集至 PAXgene Blood RNA Tubes (BRT)。如果必要可參閱附錄 C (第 69 頁) 中，有關處理 PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) 的建議。

- 確認收集血液後，將 PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) 在室溫下靜置至少 2 小時，以確保血球細胞完全溶解。PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 靜置隔夜可能會增加產量。如果血液收集後，PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 儲存在 2 - 8°C、- 20°C 或 - 70°C 下，先在室溫下回溫，然後在室溫下儲存 2 小時，再開始程序。
- 閱讀第 9 頁上的安全資訊。
- 閱讀第 39 頁的「重要須知」。
- 閱讀處理 RNA 的準則（第 66 頁的附錄 A）。
- 閱讀適當的 QIAcube 儀器使用者手冊和 QIAcube 儀器隨附的任何額外資訊，特別注意安全資訊。
- 確認器材和儀器（例如滴管和 QIAcube 儀器）已依據製造商建議定期檢查和校準。
- 結合緩衝液 (BR2) 可能在儲存期間形成沉澱物。如果需要，加溫到 37°C 以溶解。
- 清洗緩衝液 2 (BR4) 為濃縮液。首次使用前，請依瓶身的說明加入適當體積的乙醇（96 - 100%，p.a. 純度等級），以製備工作溶液。
- 如果首次使用 RNase-Free DNase Set，製備 DNase I 原液。將固態 DNase I (RNFD；1500 Kunitz 單位) *溶於套組隨附的 550 µl DNase 重新懸浮緩衝液 (DRB)。打開瓶子時，小心不要損失 DNase I (RNFD)。請勿振盪配製好的 DNase I (RNFD)。DNase I 對物理變性非常敏感。僅應以輕輕倒置玻璃瓶的方式混合。
- 目前的資料顯示，配製好的 DNase I (RNFD) 可在 2 - 8°C 下儲存最多 6 週。若要長期儲存 DNase I (RNFD)，從玻璃瓶取出原液，分裝為單次使用等分（使用試劑組隨附的 1.5 ml 微量離心管 [MCT]；足夠分為 5 份）並在 - 20°C 下儲存最多 9 個月。解凍後的分裝等分可在 2 - 8°C 下最多儲存 6 週。請勿在解凍後重新冷凍分裝等分。
- 配製和分裝 DNase I (RNFD) 時，確保遵循處理 RNA 的準則（第 66 頁的附錄 A）。
- 安裝正確的振盪器轉接器（QIAcube 儀器隨附；使用以「2」標記，適用於 2 ml 安全鎖試管的轉接器），並將振盪器架放到轉接器頂部。
- 檢查「Waste」（廢棄物），必要時清空。

* Kunitz 單位是常用於測量 DNase I 的單位，定義為在 25°C、pH 5.0 條件下，使用高度聚合 DNA 做為受質，造成 A₂₆₀ 吸光值每毫升每分鐘增加 0.001 的 DNase I 含量 (Kunitz, M. (1950) J. Gen.Physiol.**33**, 349 和 363)。

- 如果先前運行尚未進行，安裝任何相關的操作程序。QIAcube Connect MDx 需要下載相關 zip 檔案內的所有操作程序。對於傳統 QIAcube，同時安裝「PAXgene Blood RNA Part A」和「PAXgene Blood RNA Part B」操作程序。請參閱第 42 頁的「在 QIAcube 儀器上安裝操作程序」。

程序

1. 關閉 QIAcube 儀器護罩，並開啟 QIAcube 儀器電源開關（QIAcube Connect MDx：請參閱第 40 頁的圖 17；QIAcube：請參閱第 41 頁的圖 18）。
會發出嗶聲並出現開機畫面。儀器會自動進行初始化測試。
2. 打開 QIAcube 儀器護罩，並將所需試劑和塑膠用品裝載至 QIAcube 儀器內。請參閱第 43 頁的「裝載 QIAcube 儀器」。
為了節省時間，可在以下兩個 10 分鐘離心步驟（步驟 3 和 5）或其中之一進行裝載。
3. 使用旋翼式轉子，將 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 以 3000 – 5000 x g 離心 10 分鐘。
 -  確保血液樣本已在 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 內，於室溫下 (15 – 25°C) 靜置至少 2 小時，以達成血球細胞完全溶解。
 -  轉子必須包含用於圓底試管的試管轉接器。如果使用其他類型的試管轉接器，離心期間試管可能會破裂。
4. 透過傾倒或抽吸移除上清液。將 4 ml 無 RNase 水 (RNFW) 加入團塊，並使用新的二次 BD Hemogard 封閉蓋（隨試劑組提供）封閉試管。
如果傾倒上清液，小心不要擾動團塊，並以乾淨的紙巾擦乾試管邊緣。
5. 振盪直到團塊明顯溶解，並使用旋翼式轉子以 3000 – 5000 x g 離心 10 分鐘。移除並棄置全部上清液。
振盪後但離心前上清液內殘留的小碎屑，不會影響程序。
 -  未完全去除上清液，將抑制溶解並稀釋溶胞物，且因此會影響 RNA 與 PAXgene 膜結合的條件。
6. 加入 350 µl 重新懸浮緩衝液 (BR1) 並振盪，直到團塊明顯溶解為止。

7. 抽吸樣本進入 2 ml 處理試管 (PT)。



使用 PAXgene Blood RNA Kit 內含的 2 ml 處理試管 (PT)。

8. 將含樣本的開啟處理試管 (PT) 裝載至 QIAcube 儀器振盪器內 (QIAcube Connect MDx：請參閱第 45 頁的圖 21；QIAcube：請參閱第 46 頁的圖 22)。樣本位置編號以利裝載。將振盪器架塞 (QIAcube 儀器隨附) 插入振盪器架邊緣，每個處理試管旁的槽內。這可啟用在裝載檢查期間偵測樣本。



確認已安裝正確的振盪器轉接器 (QIAcube 儀器隨附的振盪器轉接器，2 ml，安全鎖試管，以「2」標記)。



如果處理少於 12 份樣本，確保以第 50 頁的圖 26 所示方式裝載振盪器架。無法處理一份 (1) 或 11 份樣本。振盪器架內的位置編號，對應置離心機內的位置編號。

9. 關閉 QIAcube 儀器護罩 (QIAcube Connect MDx：請參閱第 40 頁的圖 17；QIAcube：請參閱第 41 頁的圖 18)。

10. 選取「PAXgene Blood RNA Part A」操作程序並開始操作程序。

遵循 QIAcube 儀器觸控式螢幕上提供的指示。



確認 QIAcube 儀器上已安裝兩個程式部分 (A 部分和 B 部分) (請參閱第 42 頁的「在 QIAcube 儀器上安裝操作程序」)。



QIAcube 儀器將為樣本、吸頭、轉子轉接器和試劑瓶進行裝載檢查。

11. 「PAXgene Blood RNA Part A」操作程序結束後，打開 QIAcube 儀器護罩 (QIAcube Connect MDx：請參閱第 40 頁的圖 17；QIAcube：請參閱第 41 頁的圖 18)。從轉子轉接器移除並棄置 PAXgene RNA 管柱 (PRC)，並從振盪器清空處理試管 (PT)。



運行期間，儀器會將管柱從轉子轉接器位置 1 (蓋子位置 L1)，轉移至轉子轉接器位置 3 (蓋子位置 L2) (請參閱第 48 頁的圖 24)。

12. 封閉轉子轉接器內，含純化 RNA 的所有 1.5 ml 微量離心管 (MCT) 的蓋子 (位置 3，蓋子位置 L3，請參閱第 48 頁的圖 24)。將 1.5 ml 微量離心管 (MCT) 轉移至 QIAcube 儀器振盪器轉接器上 (QIAcube Connect MDx：請參閱第 45 頁的圖 21；QIAcube：請參閱第 46 頁的圖 22)。

13.關閉 QIAcube 儀器護罩 (QIAcube Connect MDx：請參閱第 40 頁的圖 17；QIAcube：請參閱第 41 頁的圖 18)。

14.選取「PAXgene Blood RNA Part B」操作程序並開始操作程序。

遵循 QIAcube 儀器觸控式螢幕上提供的指示。



此程式會將樣本在 65°C 下靜置，並讓 RNA 變性以便用於下游應用。即使下游應用包括熱變性步驟，也請勿省略此步驟。必須有足夠的 RNA 變性，下游應用中才能達到最大效率。

15.「PAXgene Blood RNA Part B」程式結束後，打開 QIAcube 儀器護罩 (QIAcube Connect MDx：請參閱第 40 頁的圖 17；QIAcube：請參閱第 41 頁的圖 18)。立即將含純化 RNA 的微量離心管 (MCT) 放到冰上。



警告：高溫表面。振盪器的溫度可達到最高 70°C (158°F)。避免在其處於高溫狀態時接觸。



請勿讓純化的 RNA 留在 QIAcube 儀器內。由於樣本並未冷卻，純化的 RNA 可能會被降解。因此不建議無人值守的隔夜樣本製備運行。

16.如果不會立即使用 RNA 樣本，在 -20°C 或 -70°C 下儲存。

由於重複冷凍和解凍後，RNA 會維持變性，不需要重複高溫靜置操作程序（「PAXgene Blood RNA Part B」）。如果在診斷檢測中使用 RNA 樣本，請遵循製造商提供的指示。為了透過 260 nm 下的吸光值準確定量 RNA，我們建議以 10 mM Tris-HCl，pH 7.5 稀釋樣本。*在無 RNase 水中稀釋樣本，可能會導致不準確的低數值。

使用和將測量樣本比例相同的空白析出緩衝液 (BR5) 和 Tris-HCl 緩衝液，將分光光度計歸零。析出緩衝液 (BR5) 在 220 nm 下具有高吸光值，如果分光光度計並未適當歸零，可能會導致高背景吸光值。



有關 Tris -HCl 緩衝液中的定量，使用下列關係：
 $A_{260} = 1 \Rightarrow 44 \mu\text{g/ml}$ 。參閱第 67 頁的附錄 B。

* 在操作化學物質時，務必穿戴合適的實驗室工作服、拋棄式手套和護目鏡。如需瞭解更多資訊，請參閱相應的安全資料表 (Safety Data Sheets, SDS)，其可從產品供應商處獲得。

17. 從 QIAcube 儀器工作台移除試劑瓶架 (QIAcube Connect MDx：請參閱第 45 頁的圖 21；QIAcube：請參閱第 46 頁的圖 22)，並以適當標示的蓋子封閉所有瓶子。瓶內的緩衝液可在室溫下 (15 - 25°C) 儲存最多 3 個月。移除並棄置 QIAcube 儀器微量離心管槽內，處理試管 (PT) 中的剩餘試劑。從離心機移除並棄置轉子轉接器。清空 QIAcube Connect MDx「Waste」(廢棄物) 抽屜 (QIAcube Connect MDx：請參閱第 40 頁的圖 17；QIAcube：請參閱第 41 頁的圖 18)。關閉 QIAcube 儀器護罩，並以電源開關關閉儀器電源。

疑難排解指南

本疑難排解指南對解決所有發生的問題都可能有用。關於更多資訊，請參閱我們技術支援中心的常見問題頁面：www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx。如果您對本使用手冊中的資訊和操作程序，或對樣本和檢測技術有任何問題，QIAGEN 技術服務部的科學家將樂意為您解答（聯絡資訊請參閱最後一頁或瀏覽網站 www.qiagen.com）。

意見和建議

RNA 降解

RNase 污染



程序期間或之後處理時，小心不要將任何 RNases 導入試劑內（請參閱第 66 頁的附錄 A）。

RNA 產量低

a) PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 中收集的血液不到 2.5 ml



確認 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 中收集 2.5 ml 的血液（請參閱 *PAXgene Blood RNA Tube 使用手冊*）。

b) 在水中測量 RNA 濃度



RNA 必須以 10 mM Tris-HCl, pH 7.5* 稀釋，才能準確定量（請參閱第 67 頁的附錄 B）。

c) 在手動操作程序的步驟 9 和 10，將細胞碎屑轉移至 PAXgene RNA 管柱 (PRC)



在手動操作程序的步驟 7 抽吸上清液時，避免轉移大顆粒（轉移小碎屑不會影響程序）。

d) 在步驟 3 並未完全去除上清液



確保移除全部上清液。如果傾倒上清液，透過以紙巾輕拍去除 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 邊緣的液滴。採取適當預防措施以預防交叉污染。

* 在操作化學物質時，務必穿戴合適的實驗室工作服、拋棄式手套和護目鏡。如需瞭解更多資訊，請參閱相應的安全資料表 (Safety Data Sheets, SDS)，其可從產品供應商處獲得。

意見和建議

- e) 收集至 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 內之後，血液靜置不到 2 小時



收集後，將血液在 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 內靜置至少 2 小時。

A_{260}/A_{280} 值低

- a) 使用水稀釋 RNA 以進行 A_{260}/A_{280} 測量



測量純度前，使用 10 mM Tris-HCl，pH 7.5 稀釋 RNA*（請參閱第 67 頁的附錄 B）。

- b) 分光光度計未適當歸零



使用和將測量樣本比例相同的空白析出緩衝液 (BR5) 和 10 mM Tris-HCl，pH 7.5，將分光光度計歸零。析出緩衝液 (BR5) 在 220 nm 下具有高吸光值，如果分光光度計並未適當歸零，可能會導致高背景吸光值。

儀器故障

QIAcube 儀器並未正確運作

閱讀適當的 QIAcube 使用者手冊，特別小心注意疑難排解部分。確保依據使用者手冊所述，適當維護 QIAcube 儀器。

* 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.

附錄 A：處理 RNA 的一般說明

處理 RNA



核糖核酸酶 (RNase) 是非常穩定和活躍的酵素，一般不需要輔助因子即可發揮功能。因為 RNase 很難去除活性，且甚至只有極少量即可破壞 RNA，請勿在首先清除可能的 RNase 污染前使用任何塑膠或玻璃器具。應非常小心地避免在純化程序中或之後無意將 RNase 引入 RNA 樣本。為了形成和保持一個不含 RNase 的環境，處理 RNA 時，在預處理過程中以及在使用拋棄式和非拋棄式容器和溶液時，必須採取預防措施。

一般處理



處理 RNA 時始終採用正確的微生物無菌技術。手和塵粒會攜帶細菌和黴菌，且是最常見的 RNase 污染源。處理試劑和 RNA 樣本時始終配戴乳膠或塑膠手套，以避免來自皮膚表面或多塵實驗室設備的 RNase 污染。頻繁更換手套並盡可能始終保持試管封閉。在為下游應用移液分裝時，將純化後的 RNA 置於冰上保存。

從玻璃器具和溶液移除 RNase 污染的操作程序，請參閱一般分子生物學指南，例如 Sambrook, J. and Russell, D. W. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press。

附錄 B：總 RNA 的定量與品質判定

RNA 的定量

RNA 的濃度應在分光光度計中，透過測量 260 nm 下的吸光值 (A_{260}) 而決定。為了確保顯著性，讀數應在分光光度計的線性範圍內。在 260 nm 下，1 單位的吸光值對應到每 ml 中 44 μg 的 RNA ($A_{260} = 1 \Rightarrow 44 \mu\text{g/ml}$)。此關係僅在以 10 mM Tris-HCl, pH 7.5 測量時成立*。因此如果需要稀釋 RNA 樣本，應以 10 mM Tris-HCl 進行。如同後文討論（請參閱第 68 頁的「RNA 的純度」），在 260 和 280 nm 下的吸光值比，可做為 RNA 純度的估計值。測量 RNA 樣本時，確認光析管無 RNase。使用和將測量樣本比例相同的空白析出緩衝液 (BR5) 和 Tris-HCl 緩衝液，將分光光度計歸零。析出緩衝液 (BR5) 在 220 nm 下具有高吸光值，如果分光光度計並未適當歸零，可能會導致高背景吸光值。涉及 RNA 定量的計算範例如下所示。

RNA 樣本的體積 = 80 μl

稀釋 (1/15) = 10 μl 的 RNA 樣本 + 140 μl 的 10 mM Tris-HCl, pH 7.5

在光析管（無 RNase）內測量稀釋樣本的吸光值。

A_{260} = 0.3

樣本濃度 = 44 x A_{260} x 稀釋因數

= 44 x 0.3 x 15

= 198 $\mu\text{g/ml}$

總產量 = 濃度 x 毫升樣本體積

= 198 $\mu\text{g/ml}$ x 0.08 ml

= 15.8 μg RNA

* 在操作化學物質時，務必穿戴合適的實驗室工作服、拋棄式手套和護目鏡。如需瞭解更多資訊，請參閱相應的安全資料表 (Safety Data Sheets, SDS)，其可從產品供應商處獲得。

RNA 的純度

在 260 nm 和 280 nm 下的讀數比 (A_{260}/A_{280})，可做為相對於吸收 UV 之污染物（例如蛋白質）的 RNA 純度估計值。不過 A_{260}/A_{280} 比會受到 pH 大幅影響。較低的 pH 會導致較低的 A_{260}/A_{280} 比，並降低對於蛋白質污染的靈敏度。*為了獲得更準確的數值，我們建議在 10 mM Tris-HCl，pH 7.5 內測量吸光值。純 RNA 在 10 mM Tris-HCl，pH 7.5 內的 A_{260}/A_{280} 比為 1.8 - 2.2。使用和將測量樣本比例相同的空白析出緩衝液 (BR5) 和 Tris-HCl 緩衝液，將分光光度計歸零。析出緩衝液 (BR5) 在 220 nm 下具有高吸光值，如果分光光度計並未適當歸零，可能會導致高背景吸光值。

* 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.

附錄 C：處理 PAXgene Blood RNA Tubes (BRT)



處理 PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) 時，來自 BD 的下列建議可能有用。有關 PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) 的更多資訊，請參閱 *PAXgene Blood RNA Tube 使用手冊*。

移除 BD Hemogard 封閉蓋的說明

1. 以一手握住 PAXgene Blood RNA Tube (BRT)，將拇指放在 BD Hemogard 封閉蓋下方。（為了增加穩定性，可將手臂放在穩固平面上。）用另一手，扭轉 BD Hemogard 封閉蓋，同時用另一手的拇指向上推，僅持續到試管塞鬆開為止。
2. 抬高封閉蓋之前，將拇指移開。請勿使用拇指將封閉蓋從 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 推開。警示：如果 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 包含血液，則存在暴露危險。為了協助在去除封閉蓋期間預防受傷，BD Hemogard 封閉蓋鬆開時，務必把將封閉蓋向上推的拇指，立刻從 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 移開。
3. 掀開 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 的封閉蓋。在不太可能發生的塑膠護罩與橡膠塞分離情況下，請勿重新組裝封閉蓋。小心從 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 去除橡膠塞。

插入二次 BD Hemogard 密封蓋的說明

1. 將密封蓋放至 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 上。
2. 扭轉並用力向下推，直到塞子完全重新就定位為止。需要將塞子完全重新插入，才能在處理期間，讓密封蓋穩固留在 PAXgene Blood RNA Tube (BRT) 上。

訂購資訊

產品	目錄	產品編號
PAXgene Blood RNA Kit (50)	50 PAXgene Spin Column、50 Shredder Spin Column、處理試管、RNase-Free DNase I、無 RNase 試劑和緩衝液。將搭配 PAXgene Blood RNA Tubes 使用	762174
PAXgene Blood RNA Tubes (100)	100 支血液收集管	762165
可從 QIAGEN 訂購的相關產品		
Starter Pack, QIAcube	包裝包含：試劑瓶架 (3)；架標示條 (8)；過濾吸頭，200 µl (1024)；過濾吸頭，1000 µl (1024)；寬孔過濾吸頭，1000 µl (1024)；30 ml 試劑瓶 (18)；轉子轉接器 (240)；轉子轉接器固定器	990395
Filter-Tips, 1000 µl (1024)	無菌，拋棄式過濾吸頭，放在架子上	990352
Reagent Bottles, 30 ml (6)	試劑瓶 (30 ml) 附蓋；每包 6 個；用於搭配 QIAcube 儀器試劑瓶架使用	990393
Rotor Adapters (10 x 24)	240 次製備：240 個拋棄式轉子轉接器；用於搭配 QIAcube 儀器使用	990394
Reagent Bottle Rack	用於在 QIAcube 儀器工作台上，容納 6 x 30 ml 試劑瓶的架子	990390
Rotor Adapter Holder	適用於 12 個拋棄式轉子轉接器的固定架；用於搭配 QIAcube 儀器使用	990392

產品	目錄	產品編號
可從 BD* 訂購的相關產品		
Blood Collection Set	BD Vacutainer® Safety-Lok™ 6 Blood Collection Set : 21G, 0.75 吋 (0.8 x 19 mm) 針頭, 12 吋 (305 mm) 管附快速接頭; 每盒 50 個, 每箱 200 個	367286
BD Vacutainer One-Use Holder	13 mm 和 16 mm 直徑只有箱裝; 1000/箱	364815
BD Vacutainer Plus Serum Tubes	13 x 75 mm 4.0 ml 抽血試管附紅色 BD Hemogard 密封蓋和紙質標籤; 100/盒, 1000/箱	368975

* 這些採血配件為可搭配 PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) 使用的典型產品。若需有關這些配件的更多資訊，包括如何訂購，請到 www.preanalytix.com。

最新的授權資訊和個別產品的免責聲明，請參閱各 PreAnalytiX 或 QIAGEN 試劑組使用手冊或使用者手冊。PreAnalytiX 和 QIAGEN 試劑組使用手冊及使用者手冊，可在 www.preanalytix.com 和 www.qiagen.com 取得，或者向 PreAnalytiX 技術服務部索取。

使用手冊修訂歷程記錄

文件與修訂版	變更	日期
HB-0101-004, R2	變更整份文件，以符合 GHS 法規	2015 年 6 月
HB-0101-005, R3	新範本；修訂自動化操作程序及效能資料；更新安全資訊以符合 GHS 規範；變更儀器詳細資訊和產品使用限制聲明。	2019 年 2 月
HB-0101-006, R3	修正第 5 頁試劑組內容物表內的試劑組名稱。	2020 年 1 月
HB-0101-007, R4	新增 QIAcube Connect MDx 到自動化操作程序；更新整份文件，納入提及 QIAcube Connect MDx 的用語；更新整份文件的表格、頁次和圖片編號。	2020 年 12 月

PreAnalytiX Worldwide

PreAnalytiX 產品由 QIAGEN 和 BD 公司經銷

QIAGEN - 客戶服務

訂購：www.QIAGEN.com/shop | 技術支援：support.qiagen.com | 網站：www.qiagen.com

BD - 客戶服務

Argentina, Uruguay and Paraguay

Orders: 0800.444.5523

E-mail: crc_argentina@bd.com

Australia

Orders: 1.800.656.100

Fax: 1.800.656.110

E-mail: bd_anz@bd.com

Austria

Orders: 43.1.7063660

Fax: 43.1.706366011

E-mail: customercare.at@bd.com

Belgium

Orders: 32.53.720.556

Fax: 32.53.720.549

E-mail: orders.be@bd.com

Brazil

Orders: 0800.055.56.54

E-mail: 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

Central and Eastern Europe

Orders: 48.22.377.11.11

Fax: 48.22.377.11.02

Bulgaria orders: info_bulgaria@bd.com

Czech Republic orders: info_czech@bd.com

Croatia orders: info_croatia@bd.com

Hungary orders: info_hungary@bd.com

Poland orders: info_poland@bd.com

Romania orders: info_romania@bd.com

Southeast Europe orders: info_balkan@bd.com

Serbia orders: info_serbia@bd.com

Slovakia orders: info_slovakia@bd.com

Slovenia orders: info_slovenia@bd.com

Denmark

Orders: 45.43.43.45.66

Fax: 45.43.96.56.76

Orders: ordre.dk@bd.com

Technical support: bddenmark@bd.com

Finland

Orders: 358.9.88.70.780

Fax: 358.9.88.70.7816

Orders: tilaukset.fi@bd.com

E-mail: bdsuomi@bd.com

France

Orders: 33.476.68.36.36

Fax: 33.476.68.36.93

E-mail: serviceclientbd@bd.com

Orders: commandesfr@bd.com

Technical support: vacutainerfr@bd.com

Germany

Orders: 49.6221.3050

Fax: 49.6221.305.216

E-mail: customercare.de@bd.com

India

Orders: 91.124.3949390

Orders: 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

Israel (Lapidot Medical)

Customer Support: 972.700.70.90.22

E-mail: cs@lapidot.com

Italy

Orders: 39.02.48240.500

Fax: 39.02.48240.775

Technical support: 39.3450655140

E-mail: ordini.it@bd.com

Middle East & Africa

Orders: 971.45.592.555

Fax: 971.45.592.599

E-mail: EMA_PAS@bd.com

The Netherlands

Orders: 31.20.582.94.20

Fax: 31.20.582.94.21

Orders: 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: bdnorge@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



HB-0101-007 1122120TW BD-8945 12/2020
德國產品