

Tháng 2 năm 2023

# PAXgene<sup>®</sup> Blood RNA Kit (Sổ tay) Hướng dẫn Sử dụng



Phiên bản 3 (V3)

IVD

Dùng cho Mục đích Sử dụng Chẩn đoán trong Ống nghiệm



REF

762174



PreAnalytiX<sup>®</sup> GmbH  
Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Thụy Sĩ

Được sản xuất bởi QIAGEN<sup>®</sup> GmbH cho PreAnalytiX GmbH

EC

REP

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ĐỨC

Sửa đổi lần 2

1130774VI

MAT

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

PreAnalytiX GmbH, 8634 Hombrechtikon, CH.

© 2023 PreAnalytiX GmbH. Trừ khi có ghi chú khác, PreAnalytiX, Logo PreAnalytiX và tất cả các nhãn hiệu khác là tài sản của PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH.

### Thỏa thuận Cấp phép Hạn chế cho PAXgene Blood RNA Kit

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

1. Sản phẩm chỉ có thể được sử dụng theo các giao thức được cung cấp kèm theo sản phẩm và sổ tay này và chỉ được sử dụng với các thành phần có trong bảng. PreAnalytiX® không cấp giấy phép theo bất kỳ tài sản trí tuệ nào để sử dụng hoặc kết hợp các thành phần kèm theo của bảng này với bất kỳ thành phần nào không có trong bảng này trừ khi được mô tả trong các giao thức được cung cấp cùng với sản phẩm, sổ tay này và các giao thức bổ sung có sẵn tại [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) và [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 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 bảng.

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

HB-3009-002 BD-8945 1130774VI © 2023 PreAnalytiX GmbH, tất cả quyền được bảo lưu.

## Nhà phân phối PreAnalytiX

Các sản phẩm PreAnalytiX được QIAGEN và BD sản xuất và phân phối cho PreAnalytiX.

# Mục lục

Mục lục.....	3
Mục đích Sử dụng.....	6
Người dùng Dự định.....	6
Mô tả và Nguyên tắc.....	7
Giới thiệu.....	7
Nguyên lý và quy trình.....	7
Lấy và ổn định mẫu.....	8
Tách RNA.....	8
Tách RNA thủ công.....	9
Tách RNA tự động.....	11
Vật tư được Cung cấp.....	14
Thành phần bộ dụng cụ.....	14
Thành phần của bộ dụng cụ.....	15
Vật tư Yêu cầu nhưng Không được Cung cấp.....	16
Đối với tất cả các giao thức.....	16
Đối với giao thức thủ công.....	16
Đối với giao thức tự động.....	17
Cảnh báo và Phòng ngừa.....	18
Thông tin an toàn.....	18
Thông tin khẩn cấp.....	19
Các biện pháp phòng ngừa.....	19
Bảo quản và Xử lý Thuốc thử.....	22

Độ ổn định khi sử dụng .....	22
Thu thập, Bảo quản và Xử lý Bệnh phẩm.....	23
Quy trình: Tách Thủ công RNA Toàn phần từ Máu Toàn phần ở Người được Thu vào PAXgene Blood RNA Tubes.....	24
Quy trình: Tách Tự động RNA Toàn phần từ Máu Toàn phần ở Người được Thu vào PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) .....	31
Giới hạn Sử dụng Sản phẩm.....	38
Kiểm soát Chất lượng .....	38
Đặc tính Hiệu suất.....	39
Lấy và ổn định mẫu.....	39
Tách RNA thủ công.....	44
Tách RNA tự động .....	53
Tính ổn định của RNA được tách.....	56
Lưu ý Quan trọng .....	57
Sử dụng QIAcube Connect MDx.....	57
Bắt đầu QIAcube Connect MDx .....	57
Cài đặt giao thức trên QIAcube Connect MDx .....	59
Nạp QIAcube Connect MDx.....	60
Cột quay (PSC, PRC), MCT và đồ nhựa của QIAcube Connect MDx .....	63
Xử lý.....	69
Tài liệu tham khảo .....	70
Hướng dẫn Xử lý sự cố.....	71
Biểu tượng .....	73
Thông tin Liên hệ.....	75

Phụ lục A: Nhận xét Chung về Xử lý RNA.....	76
Phụ lục B: Định lượng và Xác định Chất lượng RNA Toàn phần.....	77
Phụ lục C: Xử lý PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) .....	79
Thông tin Đặt hàng.....	81
Lịch sử Sửa đổi Tài liệu.....	83

# Mục đích Sử dụng

Dùng cho mục đích sử dụng chẩn đoán trong ống nghiệm.

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.

## Người dùng Dự định

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.

Bộ dụng cụ này dành cho chuyên gia sử dụng.

# Mô tả và Nguyên tắc

## 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 1.000 lần trong quá trình bảo quản hoặc vận chuyển ở nhiệt độ phòng (Rainen và cộng sự, 2002). 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 tách RNA nội bào nhanh chóng và hiệu quả. Hệ thống yêu cầu sử dụng PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) để lấy máu và ổn định RNA, sau đó tách 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 (từ trang 44) và giao thức tự động (từ trang 53) được bao gồm trong sổ tay này.

PAXgene Blood RNA System cho phép chuẩn hóa các bước của quy trình trước khi phân tích từ lấy bệnh phẩm máu đến tách RNA tế bào theo ISO 20186-1:2019, Kiểm tra chẩn đoán phân tử trong ống nghiệm — Thông số kỹ thuật cho các quy trình trước khi kiểm tra máu toàn phần tĩnh mạch — Phần 1: RNA tế bào đã tách.

## Lấy và ổn định mẫu

PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) chứa thuốc thử ổn định RNA độc quyền. Chất phụ gia 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. Các đặc tính hiệu suất của PAXgene Blood RNA System được xác lập với các phiên mã gen FOS và IL1B mà có thể xem từ trang 39.

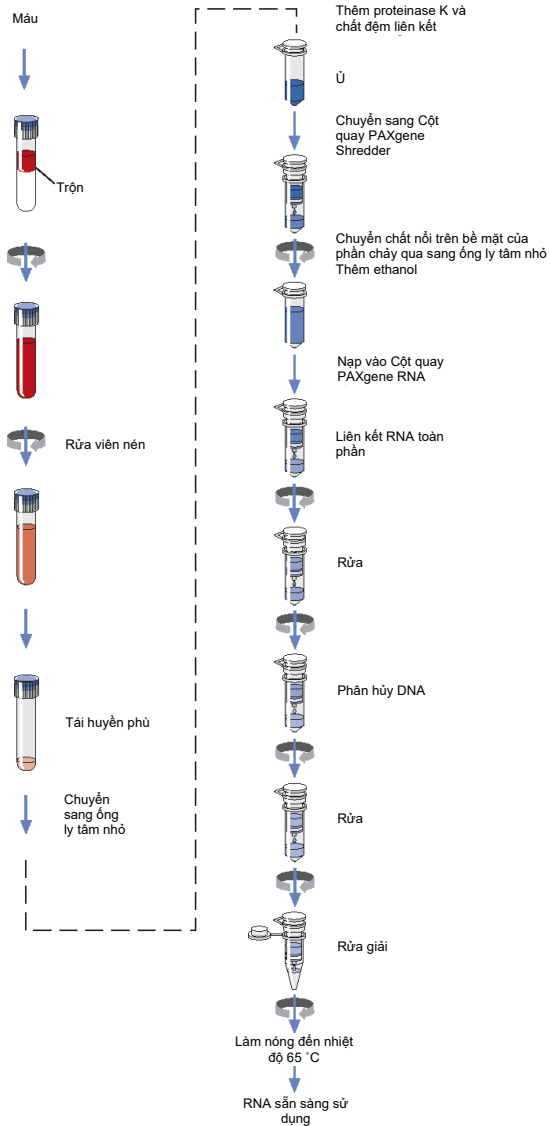
## Tách RNA

PAXgene Blood RNA Kit dùng để tách 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 1 hoặc Hình 3, trang 10 hoặc 12, tương ứng). Trong cả hai giao thức, quy trình tách 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 tách 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.



## Tách 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 (MCT). 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. Có thể xem các đặc tính hiệu suất của tách RNA thủ công bằng PAXgene Blood RNA System trên trang 44.



Hình 1: Quy trình PAXgene Blood RNA thủ công.

## Tách RNA tự động

Quá trình tách RNA máu được tự động hóa trên QIAGEN QIAcube Connect MDx. Dụng cụ 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. Chuẩn bị mẫu bằng QIAcube Connect MDx tuân theo các bước tương tự như quy trình thủ công (tức là ly giải, liên kết, rửa và rửa giải) và có thể thực hiện bằng cách sử dụng cùng PAXgene Blood RNA Kit.

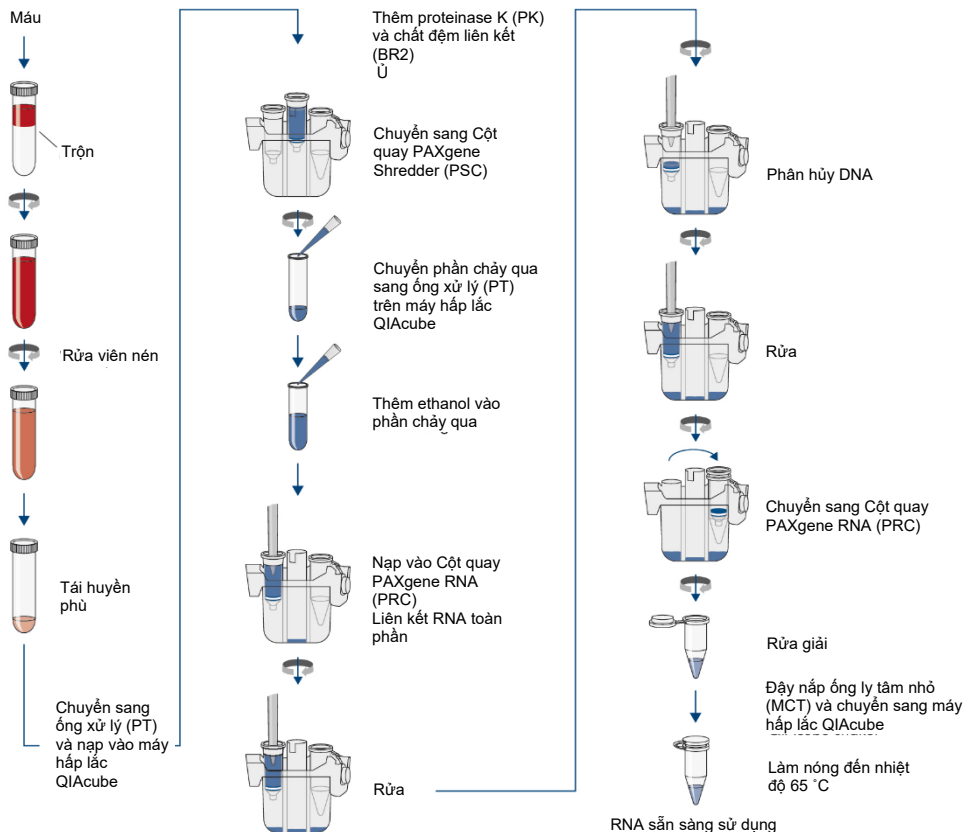


Hình 2: QIAcube Connect MDx.



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 .

Giao thức tách RNA tự động bao gồm 2 phần (hoặc giao thức), “PAXgene Blood RNA Phần A” (từ máu trong PAXgene Blood RNA Tube để rửa giải) và “PAXgene Blood RNA Phần B” (sau khi rửa giải đến RNA sẵn sàng sử dụng), với sự can thiệp thủ công nhanh gọn giữa 2 phần (xem Hình 3).



Hình 3: Quy trình PAXgene Blood RNA tự động.

Viên nén axit nucleic được ly tâm, rửa và tái huyền phù (xem “Tách RNA”, trang 8) được chuyển từ PAXgene Blood RNA Tube (BRT) vào các ống xử lý (Processing Tube, PT), được đặt vào máy hấp lắ nhiệt trên bàn làm việc của QIAcube Connect MDx. Người vận hành chọn và bắt đầu giao thức “PAXgene Blood RNA Part A” (PAXgene Blood RNA Phần A) từ menu. QIAcube Connect MDx thực hiện các bước của giao thức cho đến rửa giải RNA trong chất đệm rửa giải (BR5). Người vận hành chuyển MCT chứa RNA đã lọc vào máy hấp lắ nhiệt của QIAcube Connect MDx. 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 QIAcube Connect MDx. Có thể xem các đặc tính hiệu suất của tách RNA tự động bằng PAXgene Blood RNA System trên QIAcube Connect MDx trên trang 53.

# Vật tư được Cung cấp

## Thành phần bộ dụng cụ

PAXgene Blood RNA Kit Số danh mục Số lượng thiết bị thu thập			(50) 762174 50
Tên thành phần	Mô tả	Biểu tượng	Số lượng
BR1	Resuspension Buffer (Chất đệm Tái huyền phù)		20 mL
BR2	Binding Buffer (Chất đệm Liên kết)*		18 mL
BR3	Wash Buffer 1 (Chất đệm rửa 1)*		45 mL
BR4	Wash Buffer 2 (Chất đệm rửa 2) (đậm đặc)†		11 mL
BR5	Elution Buffer (Chất đệm Rửa giải)		6 mL
RNFW	RNase-Free Water (Nước Không có RNase) (chai)		2 × 125 mL
PK	Proteinase K (nắp màu xanh lá)		2 × 1,4 mL
PRC	PAXgene RNA Spin Columns (Cột quay PAXgene RNA) (màu đỏ)‡		5 × 10
PT	Processing Tubes (Ống Xử lý) (2 mL)§		6 × 50
Hemogard™	Secondary BD Hemogard Closures (Vỏ BD Hemogard phụ)		50
MCT	Microcentrifuge Tubes (Ống Ly tâm nhỏ) (1,5 mL)§		3 × 50, 1 × 10
RNFD	DNase I, RNase-free (DNase I, không có RNase) (đóng khô)		1.500 đơn vị Kunitz¶
RDD	DNA Digestion Buffer (Chất đệm Phân hủy DNA) (nắp màu trắng)		2 × 2 mL
DRB	DNase Resuspension Buffer (Chất đệm Tái huyền phù DNase) (ống, nắp màu tím hoa cà)		2 mL
PSC	PAXgene Shredder Spin Columns (Cột quay PAXgene Shredder) (màu tím hoa cà)‡		5 × 10
Sổ tay	PAXgene Blood RNA Kit Handbook (Sổ tay PAXgene Blood RNA Kit) (Phiên bản 3)		1

\* Không tương thích với thuốc thử khử trùng chứa thuốc tẩy. Chứa muối guanidin. Xem trang 18 để biết Thông tin an toàn.

† 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% thể tích/thể tích, độ tinh khiết p.a.), như được chỉ định trên chai, để thu được dung dịch làm việc.

‡ Mỗi cột được đặt trong một gói xếp chỉ dành cho mục đích sử dụng một lần. Vui lòng xem thông tin an toàn để biết hướng dẫn xử lý.

§ Các ống có sẵn trong túi nhựa và mỗi ống chỉ được sử dụng một lần. Vui lòng xem thông tin an toàn để biết hướng dẫn xử lý.

¶ 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).

## Thành phần của bộ dụng cụ

Tên thành phần	Mô tả	Thành phần Hoạt tính	Nồng độ
BR1	Resuspension Buffer (Chất đệm Tái huyền phù)	Không có	-
BR2	Binding Buffer (Chất đệm Liên kết)	Guanidine thiocyanate	≥ 30 đến < 50% trọng lượng/trọng lượng
BR3	Wash Buffer 1 (Chất đệm rửa 1)	Guanidine thiocyanate Ethanol	≥ 10 đến < 20% trọng lượng/trọng lượng ≥ 3 đến < 10% trọng lượng/trọng lượng
BR4	Wash Buffer 2 (Chất đệm rửa 2) (đậm đặc)	Không có	-
BR5	Elution Buffer (Chất đệm Rửa giải)	Không có	-
RNFW	RNase-Free Water (Nước Không có RNase) (chai)	Không có	-
PK	Proteinase K (nắp màu xanh lá)	Proteinase K	≥ 1 đến < 3% trọng lượng/trọng lượng
RNFD	DNase I, RNase-free (DNase I, không có RNase) (đóng khô)	DNase	≥ 90 đến ≤ 100% trọng lượng/trọng lượng
RDD	DNA Digestion Buffer (Chất đệm Phân hủy DNA) (nắp màu trắng)	Không có	-
DRB	DNase Resuspension Buffer (Chất đệm Tái huyền phù DNase) (ống, nắp màu tím hoa cà)	Không có	-

# Vật tư Yêu cầu nhưng Không được 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 Tubes (BRT, PreAnalytiX; số danh mục 762165)
- Ethanol (96–100% thể tích/thể tích, độ tinh khiết p.a.)
- Pipet\* (10  $\mu$ L – 4 mL)
- Đầu tip pipet không có RNase, vô trùng, có tấm chắn sol khí†
- Xy lanh có chia độ‡
- Máy ly tâm\* có khả năng đạt được 3.000–5.000  $\times g$  và được trang bị rôto thùng xoay để giữ PAXgene Blood RNA Tubes (BRT)
- Bộ 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 1.000–8.000  $\times g$ , 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 MCT 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.

† Đảm bảo rằng bạn nắm rõ các hướng dẫn về xử lý RNA (Phụ lục A, trang 75).

‡ Để thêm ethanol vào Chất đệm BR4 có đặc.



- Máy hấp lắ-ủ\* có khả năng ủ ở nhiệt độ 55 °C và 65 °C và lắ ở ≥400 rpm không vượt quá 1.400 rpm (ví dụ: Eppendorf® Thermomixer Compact hoặc tương đương)

## Đối với giao thức tự động

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

### Vật tư tiêu hao QIAcube Connect MDx:

- Filter-Tips, 1000 µL (1024) (QIAGEN, số danh mục 990352)†
- Reagent Bottles, 30 mL (6) (QIAGEN, số danh mục 990393)†
- Rotor Adapters (10 × 24) (QIAGEN, số danh mục 990394)†

### Phụ kiện QIAcube Connect MDx:

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

### Gói dịch vụ QIAcube Connect MDx:

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

\* Đảm bảo rằng 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 danh mục 990395).

# Cảnh báo và Phòng ngừa

Đối với các khách hàng ở khu vực Liên minh Châu Âu, lưu ý rằng bạn được yêu cầu báo cáo sự cố nghiêm trọng đã xảy ra liên quan đến thiết bị cho nhà sản xuất và cơ quan chức năng của Quốc gia Thành viên nơi người dùng và/hoặc bệnh nhân cư trú.

Đối với khách hàng bên ngoài Liên minh Châu Âu, xin lưu ý rằng bạn có thể được yêu cầu tham khảo các quy định tại địa phương về cách báo cáo các sự cố nghiêm trọng đã xảy ra liên quan đến thiết bị cho nhà sản xuất và/hoặc đại diện được ủy quyền của nhà sản xuất và cơ quan quản lý nơi người dùng và/hoặc bệnh nhân cư trú.

## Thông tin an toàn

Khi làm việc với hóa chất và vật liệu nguy hiểm sinh học, luôn mang 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 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.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)**, nơi bạn có thể tìm, xem và in SDS cho mỗi bộ dụng cụ QIAGEN và thành phần của bộ dụng cụ.

- Tất cả các hóa chất và vật liệu sinh học đều có khả năng gây nguy hiểm. Mẫu máu bệnh phẩm và mẫu có khả năng lây nhiễm và phải được coi là vật liệu nguy hiểm sinh học.
- Loại bỏ chất thải sinh học và chất thải bộ xét nghiệm tuân theo quy trình an toàn tại của địa phương của bạn.

# Thông tin khẩn cấp

CHEMTREC

Bên ngoài Hoa Kỳ & Canada +1 703-527-3887

## Các biện pháp phòng ngừa

Khi làm việc với máu, thực hành các biện pháp phòng ngừa phổ biến để tránh nguy cơ tiếp xúc tiềm ẩn với các mầm bệnh lây truyền qua đường máu (ví dụ: HIV, viêm gan B và các vi-rút lây truyền qua đường máu khác). Sử dụng găng tay, áo choàng, thiết bị bảo vệ mắt, thiết bị bảo vệ cá nhân khác và các biện pháp kiểm soát kỹ thuật để tránh tiếp xúc với máu. Để biết thêm thông tin, vui lòng tham khảo 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% (thể tích/thể tích) 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 tách RNA, được coi là có khả năng lây bệnh. Sử dụng các hộp chứa nguy hiểm sinh học để xử lý các vật liệu sinh học. Việc xử lý phải được thực hiện theo các quy định và quy trình của địa phương tại cơ sở của bạn.

Các thành phần cụ thể của PAXgene Blood RNA Kit chỉ dành cho mục đích sử dụng một lần. Xem Thành phần bộ dụng cụ trên trang 14 để biết thông tin về các thành phần riêng lẻ.

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 Tubes (BRT).

#### Buffer BR2



Chú ý: 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. Không xả ra môi trường. Đeo găng tay bảo hộ/ quần áo bảo hộ/ thiết bị bảo vệ mắt/ thiết bị 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. **NẾU tiếp xúc hoặc lo ngại:** Gọi ngay cho **TRUNG TÂM CHỐNG ĐỘC** hoặc bác sĩ/ chuyên viên y tế. Thải bỏ các thành phần/ thùng chứa tại nhà máy xử lý chất thải được phê duyệt.

### Buffer 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/ thiết bị bảo vệ mắt/ thiết bị 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/ chuyên viên y tế.

### DNase I



Chứa: DNase. Nguy hiểm! Có thể gây ra phản ứng dị ứng da. Có thể gây ra các triệu chứng dị ứng, hen suyễn hoặc khó thở nếu hít phải. Tránh hít bụi. Đeo găng tay bảo hộ/ quần áo bảo hộ/ thiết bị bảo vệ mắt/ thiết bị 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 dễ thở. Giặt quần áo nhiễm bẩn trước khi sử dụng lại.

# Bảo quản và Xử lý Thuốc thử

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.

Cần chú ý đến ngày hết hạn và điều kiện bảo quản in trên hộp và nhãn của tất cả các thành phần. Không sử dụng các thành phần đã hết hạn hoặc được bảo quản không đúng cách.

## Độ ổn định khi sử dụng

Sau khi sử dụng bộ dụng cụ lần đầu tiên, thuốc thử ổn định trong chai ban đầu ở nhiệt độ và cho đến ngày hết hạn được ghi trên nhãn hộp bộ dụng cụ.

Thuốc thử được đổ đầy vào các chai thuốc thử của QIAcube Connect MDx ổn định trong 3 tháng bảo quản ở nhiệt độ phòng (15–25 °C).

DNase I đã hoàn nguyên (RNFD) ổn định ở 2–8 °C trong 6 tuần trong lọ thủy tinh ban đầu (dung dịch gốc).

Phần dung dịch gốc sử dụng một lần trong MCT 1,5 mL (đi kèm với bộ dụng cụ) ổn định trong 9 tháng bảo quản ở –20 °C. Sau khi rã đông, phần sử dụng một lần ổn định trong 6 tuần bảo quản ở 2–8 °C.

# Thu thập, Bảo quản và Xử lý Bệnh phẩm

PAXgene Blood RNA Kit dùng với máu được thu trong PAXgene Blood RNA Tubes. Máu phải được thu trong PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) theo hướng dẫn trong Sổ tay PAXgene Blood RNA Tube. Nếu cần, hãy xem Phụ lục C (trang 79) để biết các khuyến cáo về việc xử lý PAXgene Blood RNA Tubes (BRT). Tất cả các mẫu nên được coi là có thể gây nguy hiểm. Các đặc tính hiệu suất của PAXgene Blood RNA System được xác lập với các phiên mã gen FOS và IL1B mà có thể xem trên các trang 40–43.

# Quy trình: Tách Thủ công RNA Toàn phần từ Máu Toàn phần ở Người được Thu vào PAXgene Blood RNA Tubes

## 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 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 (PSC, PRC) 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 (PSC, PRC) bằng đầu tip pipet.
- Sau khi xoay hoặc làm nóng 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 (PSC, PRC) trước khi đặt vào máy ly tâm nhỏ. Ly tâm như mô tả trong quy trình.
- Mỗi lần chỉ mở một cột quay (PSC, PRC) 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 PT mà các cột quay (PSC, PRC) có thể được chuyển sang sau khi ly tâm. Loại bỏ các PT đã sử dụng có chứa phần chảy qua và đặt các cột quay (PSC, PRC) vào các PT mới trước khi chuyển trở lại máy ly tâm siêu nhỏ.

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

- Máu phải được thu trong PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) theo hướng dẫn trong *Sổ tay PAXgene Blood RNA Tube*. Nếu cần, hãy xem Phụ lục C (trang 79) để biết các khuyến cáo về việc xử lý PAXgene Blood RNA Tubes (BRT).
- Đảm bảo rằng PAXgene Blood RNA Tubes (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 và kết tủa RNA. Việc ủ PAXgene Blood RNA Tube (BRT) qua đêm có thể làm tăng năng suất. Nếu quá trình ủ máu ban đầu ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ không được thực hiện trước khi bảo quản ở 2–8 °C, –20 °C hoặc –70 °C, trước tiên hãy cân bằng PAXgene Blood RNA Tube (BRT) về nhiệt độ phòng, sau đó ủ ở nhiệt độ này trong 2 giờ trước khi bắt đầu quy trình.
- Đọc thông tin an toàn trên trang 18.
- Đọc hướng dẫn về xử lý RNA (Phụ lục A, trang 76).
- 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% thể tích/thể tích, 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; 1.500 đơn vị Kunitz)\* trong 550  $\mu\text{L}$  chất đệm tái huyền phù DNase (DNase Resuspension Buffer, DRB) được cung cấp kèm theo bộ dụng cụ. Cần 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.
- DNase I đã hoàn nguyên (RNFD) có thể được bảo quản ở 2–8 °C trong lọ thủy tinh ban đầu (dung dịch gốc) hoặc ở –20 °C sau khi lấy dung dịch gốc ra khỏi lọ thủy tinh và chia thành các lọ dùng một lần (sử dụng MCT 1,5 mL được cung cấp cùng với bộ dụng cụ; có đủ cho 5 phần). Phần đông lạnh đã rã đông có thể được bảo quản ở 2–8 °C. 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 76).

## Quy trình thực hiện

1. Ly tâm PAXgene Blood RNA Tube (BRT) trong 10 phút ở 3.000–5.000  $\times g$  bằng cách sử dụng rôto thùng 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 và kết tủa RNA.

\* 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).



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.

- Loại bỏ chất nổi trên bề mặt bằng cách gạt lọc hoặc hút. Thêm 4 mL Nước Không có RNase (RNase-Free Water, RNF<sub>W</sub>) 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 gạt, 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  $3.000\text{--}5.000 \times g$  bằng rôto thùng 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  $\mu\text{L}$  chất đệm tái huyền phù (BR1) và xoáy cho đến khi viên nén tan hoàn toàn.
5. Hút mẫu vào MCT 1,5 mL. Thêm 300  $\mu\text{L}$  chất đệm liên kết (BR2) và 40  $\mu\text{L}$  proteinase K (PK). Trộn bằng cách xoáy trong 5 giây d và ù trong 10 phút ở nhiệt độ 55 °C bằng máy hấp lắ-ủ với tốc độ 400–1.400 rpm. Sau khi ù, 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 PSC (màu tím hoa cà) được đặt trong PT 2 mL và ly tâm trong 3 phút ở tốc độ tối đa (nhưng không vượt quá  $20.000 \times g$ ).



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

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



Một số mẫu có thể chảy qua 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 MCT 1,5 mL mới mà không làm xáo trộn viên nén trong PT.
8. Thêm 350  $\mu\text{L}$  ethanol (96–100% thể tích/thể tích, độ tinh khiết p.a.). Trộn bằng cách xoay và ly tâm trong thời gian ngắn (1–2 giây ở  $500\text{--}1.000 \times g$ ) để loại bỏ các giọt khỏi 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  $\mu\text{L}$  mẫu vào PRC (màu đỏ) được đặt trong PT 2 mL và ly tâm trong 1 phút ở  $8.000\text{--}20.000 \times g$ . Đặt cột quay (PRC) vào PT 2 mL mới và thải bỏ PT cũ có chứa phần chảy qua.
10. Hút mẫu còn lại vào PRC và ly tâm trong 1 phút ở  $8.000\text{--}20.000 \times g$ . Đặt cột quay (PRC) vào PT 2 mL mới và thải bỏ 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  $\mu\text{L}$  chất đệm rửa 1 (BR3) vào PRC. Ly tâm trong 1 phút ở  $8.000\text{--}20.000 \times g$ . Đặt cột quay (PRC) vào PT 2 mL mới và thải bỏ PT cũ có chứa phần chảy qua.

12. Thêm 10  $\mu\text{L}$  dung dịch gốc DNase I (RNFD) vào 70  $\mu\text{L}$  chất đệm phân hủy DNA (RDD) trong 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  $\mu\text{L}$  dung dịch gốc DNase I (RNFD) vào 700  $\mu\text{L}$  chất đệm phân hủy DNA (RDD). Sử dụng 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  $\mu$ L) trực tiếp lên màng 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  $\mu$ L chất đệm rửa 1 (BR3) vào PRC và ly tâm trong 1 phút ở 8.000–20.000  $\times g$ . Đặt cột quay (PRC) vào PT 2 mL mới và thải bỏ PT cũ có chứa phần chảy qua.

15. Hút 500  $\mu$ L chất đệm rửa 2 (BR4) vào PRC và ly tâm trong 1 phút ở 8.000–20.000  $\times g$ . Đặt cột quay (PRC) vào PT 2 mL mới và thải bỏ 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 25).

16. Hút thêm 500  $\mu$ L chất đệm rửa 2 (BR4) vào PRC. Ly tâm trong 3 phút ở 8.000–20.000  $\times g$ .

17. Loại bỏ PT chứa phần chảy qua và đặt PRC vào một PT 2 mL mới. Ly tâm trong 1 phút ở 8.000–20.000  $\times g$ .

18. Thải bỏ PT có chứa phần chảy qua. Đặt PRC vào MCT 1,5 mL và dùng pipet hút 40  $\mu$ L chất đệm rửa giải (BR5) trực tiếp lên màng PRC. Ly tâm trong 1 phút ở 8.000–20.000  $\times g$  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  $\mu$ L chất đệm rửa giải (BR5) và cùng một MCT.

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



Quá trình ủ mẫu ở nhiệt độ 65 °C này 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 tại thời điểm này là cần thiết để đạt hiệu quả tối đa trong 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 hệ thức  $A_{260} = 1 \Rightarrow 44 \mu\text{g/mL}$ . Xem Phụ lục B, trang 77.

22. Đậy kín tất cả các chai có chứa chất đệm và nước không có RNase, các lọ và ống chứa enzyme và chất đệm enzyme, và các túi có chứa vật liệu nhựa từ bộ dụng cụ được sử dụng cho quy trình. Lưu trữ các thành phần còn lại của bộ dụng cụ như mô tả trong phần “Bảo quản và Xử lý Thuốc thử” (trang 22) và “Độ ổn định khi sử dụng” (trang 22) cho đến lần sử dụng tiếp theo.

\* 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.

# Quy trình: Tách Tự động RNA Toàn phần từ Máu Toàn phần ở Người được Thu vào PAXgene Blood RNA Tubes (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 PT, MCT và bộ tiếp hợp rôto được ghi nhãn thích hợp bằng bút không phai. Ghi nhãn trên nắp và thân mỗi MCT, thân mỗi 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 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 (PSC, PRC) bằng đầu tip pipet.
- Sau khi xoay hoặc làm nóng 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 Tubes (BRT) theo hướng dẫn trong *Sổ tay PAXgene Blood RNA Tube*. Nếu cần, hãy xem Phụ lục C (trang 79) để biết các khuyến cáo về việc xử lý PAXgene Blood RNA Tubes (BRT).
- Đảm bảo rằng PAXgene Blood RNA Tubes (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 và kết tủa RNA. 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 18.
- Đọc “Lưu ý Quan trọng”, trang 57.
- Đọc hướng dẫn về xử lý RNA (Phụ lục A, trang 76).
- Đọc Hướng dẫn Sử dụng QIAcube Connect MDx thích hợp và bất kỳ thông tin bổ sung nào được cung cấp cùng với dụng cụ, chú ý kỹ phần thông tin an toàn.
- Đảm bảo rằng các thiết bị và dụng cụ, chẳng hạn như pipet và QIAcube Connect MDx, 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% thể tích/thể tích, 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; 1.500 đơn vị Kunitz)\* trong 550 µL chất đệm tái huyền phù DNase (DNase Resuspension Buffer, DRB) được cung cấp kèm theo bộ này. Cần 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.
- DNase I đã hoàn nguyên (RNFD) có thể được bảo quản ở 2–8 °C trong lọ thủy tinh ban đầu (dung dịch gốc) hoặc ở –20 °C sau khi lấy dung dịch gốc ra khỏi lọ thủy tinh và chia thành các lọ dùng một lần (sử dụng MCT 1,5 mL được cung cấp cùng với bộ dụng cụ; có đủ cho 5 phần). Phần đông lạnh đã rã đông có thể được bảo quản ở 2–8 °C. 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 76).
- Lắp đặt đúng bộ tiếp hợp máy hấp lắ (đi kèm với QIAcube Connect MDx; 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. Xem “Cài đặt giao thức trên QIAcube Connect MDx”, trang 59.

## Quy trình thực hiện

1. Đóng nắp QIAcube Connect MDx, và bật dụng cụ bằng công tắc nguồn (xem Hình 15, trang 58).

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

\* 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).

2. Mở nắp QIAcube Connect MDx và nạp thuốc thử và bộ phận bằng nhựa cần thiết vào dụng cụ. Xem “Nạp QIAcube Connect MDx”, trang 60.

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  $3.000\text{--}5.000 \times g$  bằng cách sử dụng rôto thùng xoay.



Đảm bảo rằng mẫu máu đã được ủ trong PAXgene Blood RNA Tube (BRT) trong tối thiểu 2 giờ ở nhiệt độ phòng ( $15\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) để phân giải hoàn toàn các tế bào máu và kết tủa RNA.



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. 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. Thêm 4 mL Nước Không có RNase (RNase-Free Water, RNFW) vào viên nén và đóng ống bằng cách sử dụng vỏ BD Hemogard phụ mới (đi kèm bộ dụng cụ).

5. Xoáy cho đến khi viên nén được hòa tan rõ ràng và ly tâm trong 10 phút ở  $3.000\text{--}5.000 \times g$  bằng rôto thùng 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  $\mu\text{L}$  chất đệm tái huyền phù (BR1) và xoáy cho đến khi viên nén tan hoàn toàn.

7. Hút mẫu vào PT 2 mL.



Sử dụng các PT 2 mL có trong PAXgene Blood RNA Kit.

8. Nạp các PT đã mở có chứa mẫu vào máy lắc QIAcube Connect MDx (xem Hình 18, trang 62). Các vị trí mẫu được đánh số để tiện cho việc nạp. Cắm phích cắm giá đỡ máy hấp lắc (đi kèm với QIAcube Connect MDx) vào các khe ở mép giá đỡ máy hấp lắc bên cạnh mỗi PT. 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 QIAcube Connect MDx) được lắp đặt.



Nếu xử lý ít hơn 12 mẫu, hãy đảm bảo nạp giá đỡ máy hấp lắc như trình bày trong Hình 22, trang 66. 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 QIAcube Connect MDx (xem Hình 15, trang 58).

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 QIAcube Connect MDx.



Đảm bảo rằng cả hai phần chương trình (phần A và phần B) đều được cài đặt trên QIAcube Connect MDx (xem “Cài đặt giao thức trên QIAcube Connect MDx”, trang 59).



Dụng cụ 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 QIAcube Connect MDx (xem Hình 15, trang 58). Tháo và loại bỏ các PRC khỏi bộ tiếp hợp rôto và các 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 20, trang 64).

- Đóng nắp của tất cả các MCT 1,5 mL có chứa RNA đã tinh sạch trong bộ tiếp hợp rôto (vị trí 3, vị trí nắp L3, xem Hình 20, trang 64). Chuyển các MCT 1,5 mL vào bộ tiếp hợp máy hấp lắc QIAcube Connect MDx (xem Hình 18, trang 62).
- Đóng nắp QIAcube Connect MDx (xem Hình 15, trang 58).
- 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 QIAcube Connect MDx.



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 tại thời điểm này là cần thiết để đạt hiệu quả tối đa trong các ứng dụng cùng hướng.

- Sau khi hoàn tất giao thức “PAXgene Blood RNA Part B” (PAXgene Blood RNA Phần B), hãy mở nắp QIAcube Connect MDx (xem Hình 15, trang 58). Đặt ngay các 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. Tránh chạm vào máy khi còn nóng.



Không để RNA đã lọc sót lại trong QIAcube Connect MDx. 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  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hoặc  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

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 hệ thức

$A_{260} = 1 \Rightarrow 44\text{ }\mu\text{g/mL}$ . Xem Phụ lục B, trang 77.

17. Tháo giá đựng chai thuốc thử khỏi bàn làm việc QIAcube Connect MDx (xem Hình 18, trang 62), và đóng tất cả các chai thuốc thử bằng các nắp có dán nhãn thích hợp. Đậy kín tất cả các chai có chứa chất đệm và nước không có RNase, các lọ và ống chứa enzyme và chất đệm enzyme, và các túi có chứa vật liệu nhựa từ bộ dụng cụ được sử dụng cho quy trình. Lưu trữ các thành phần còn lại của bộ dụng cụ và các chai thuốc thử như mô tả trong phần “Bảo quản và Xử lý Thuốc thử” (trang 22) và “Độ ổn định khi sử dụng” (trang 22) cho đến lần sử dụng tiếp theo.

Loại bỏ và thải bỏ thuốc thử còn lại trong các PT trong các khe ống ly tâm nhỏ của QIAcube Connect MDx MCT. Tháo và thải bỏ bộ tiếp hợp rôto khỏi máy ly tâm. Đổ bỏ ngăn chứa chất thải của QIAcube Connect MDx (xem Hình 15, trang 58). Đóng nắp dụng cụ 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.

# Giới hạn Sử dụng Sản phẩm

PAXgene Blood RNA Kit được dùng để tách 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 tách 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. Các thành phần của bộ dụng cụ chỉ nhằm mục đích sử dụng trong giao thức thủ công và tự động được mô tả trong hướng dẫn sử dụng này.

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

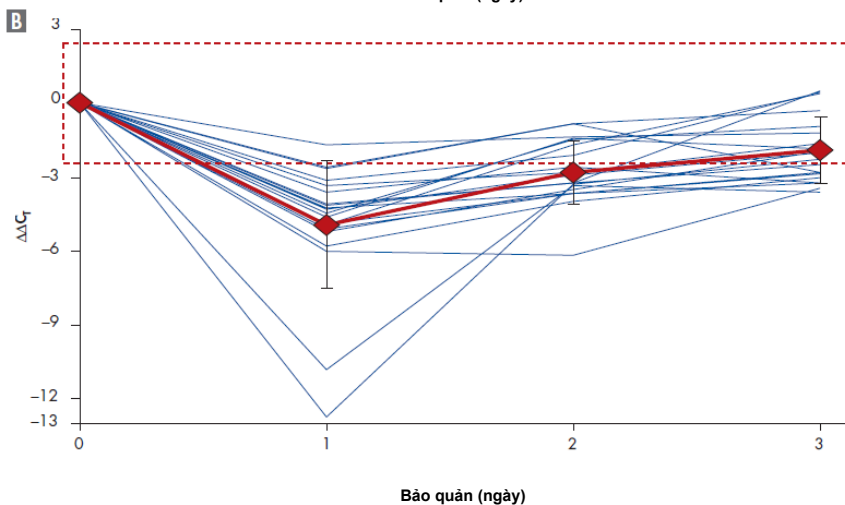
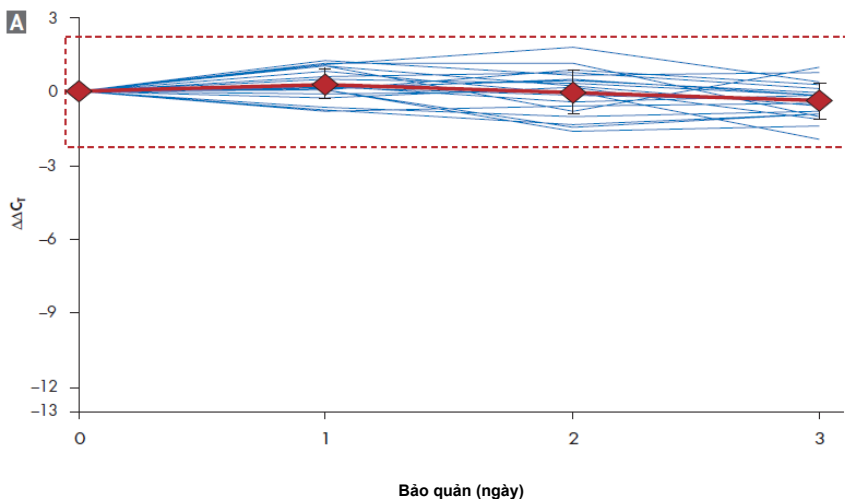
# Đặc tính Hiệu suất

## Lấy và ổn định mẫu

PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) chứa thuốc thử ổn định RNA độc quyền. Chất phụ gia 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 Tubes (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 4 và Hình 5, trang 40 và 41, tương ứng) hoặc tối đa 5 ngày ở nhiệt độ 2–8 °C (Hình 6 và Hình 7, trang 42 và 43). Ngoài ra, máu đã ổn định có thể được bảo quản đông lạnh. 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 truy cập [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com) hoặc liên hệ Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN.

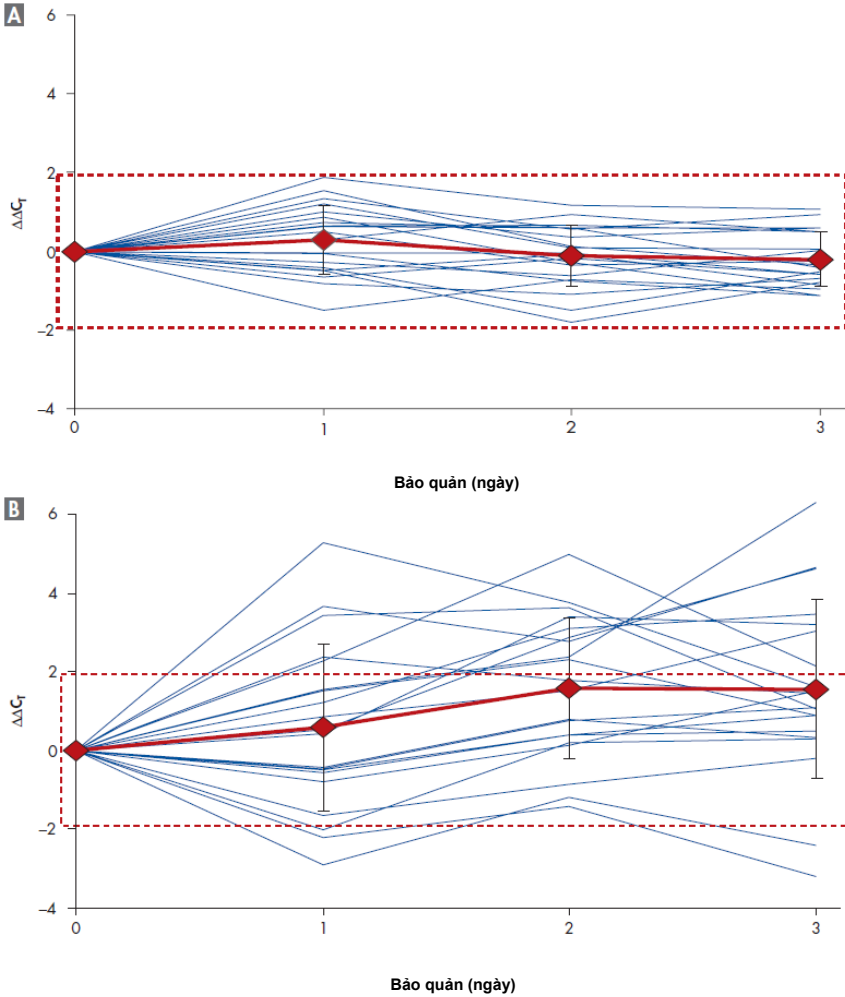
Thời gian ổn định RNA thực tế có thể khác nhau tùy thuộc vào loại RNA tế bào và ứng dụng cùng hướng được sử dụng. Do số lượng phiên mã hạn chế được xác nhận cho các thông số kỹ thuật ổn định (phiên mã gen FOS và IL1B), các đặc tính hiệu suất chưa được xác lập cho tất cả các phiên mã. Người dùng nên xem 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 Tubes đang được tiến hành.

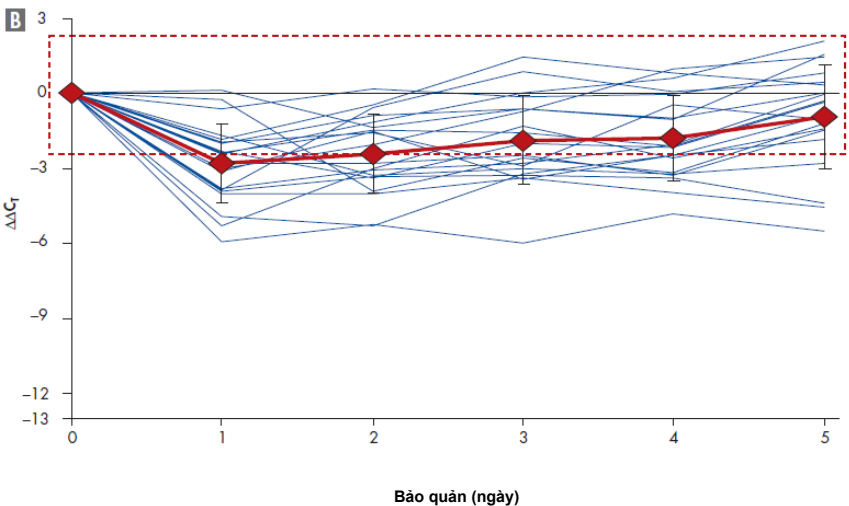
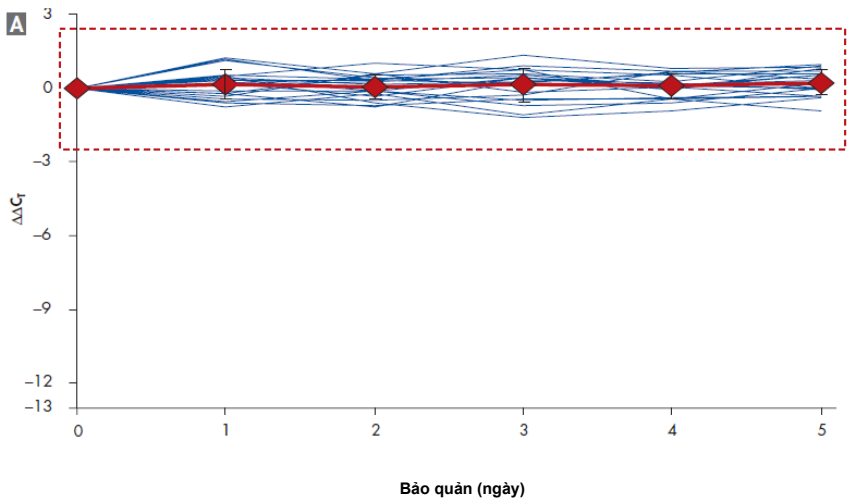


**Hình 4: Độ ổn định RNA trong mẫu máu ở nhiệt độ 18–25 °C: FOS.** Máu được lấy từ 10 người hiến khỏe mạnh, với các mẫu trùng nhau và được bảo quản ở nhiệt độ 18–25 °C trong số ngày được chỉ định, sau đó tách RNA toàn phần. **[A]** Máu được lấy và bảo quản trong PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) và RNA toàn phần được tinh sạch 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 tinh sạch bằng phương pháp tách 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  $\pm 3 \times$  của xét nghiệm ( $2,34 C_T$ ).

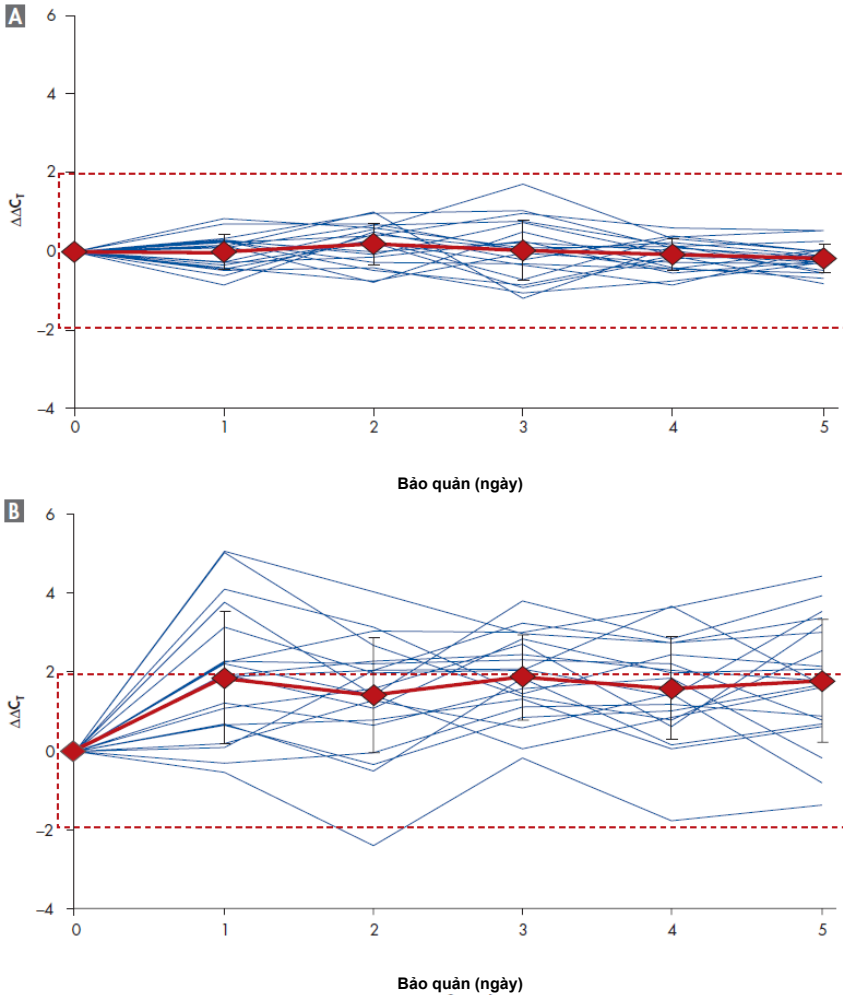




**Hình 5: Độ ổn định RNA trong mẫu máu ở nhiệt độ 18–25 °C: IL1B.** Máu được lấy và RNA toàn phần được tinh sạch, sau khi bảo quản ở nhiệt độ 18–25 °C, như được mô tả trong Hình 4. Mức phiên mã tương đối của IL1B được xác định bằng RT-PCR đôi, thời gian thực, sử dụng rRNA 18S làm tiêu chuẩn nội bộ. Giá 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  $\pm 3\times$  của xét nghiệm ( $1,93 C_T$ ).



**Hình 6: 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 tách RNA toàn phần. [A] Máu được lấy và bảo quản trong PAXgene Blood RNA Tubes (BRT) và RNA toàn phần được tinh sạch 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 tinh sạch bằng phương pháp tách 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  $\pm 3\times$  của xét nghiệm ( $2,34 C_T$ ).



**Hình 7: Độ ổn định RNA trong mẫu máu ở nhiệt độ 2–8 °C: IL1B.** Máu được lấy và RNA toàn phần được tinh sạch, sau khi bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C, như được mô tả trong Hình 6. 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  $\pm 3\times$  của xét nghiệm ( $1,93 C_T$ ).

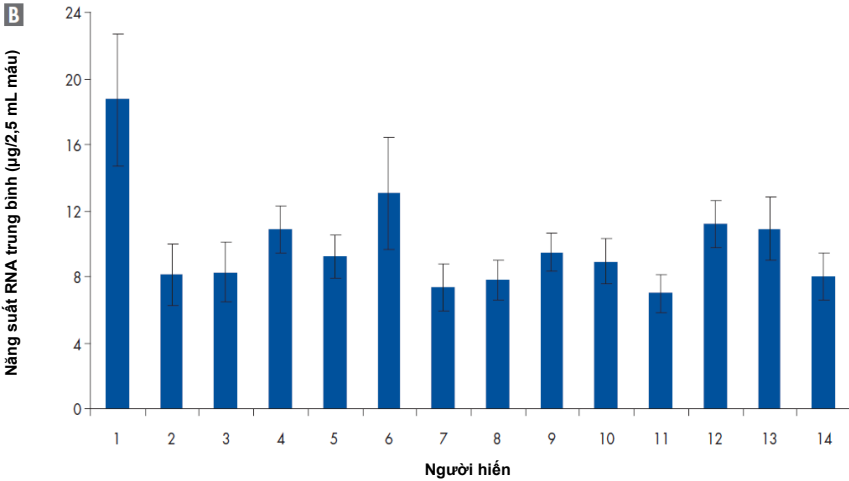
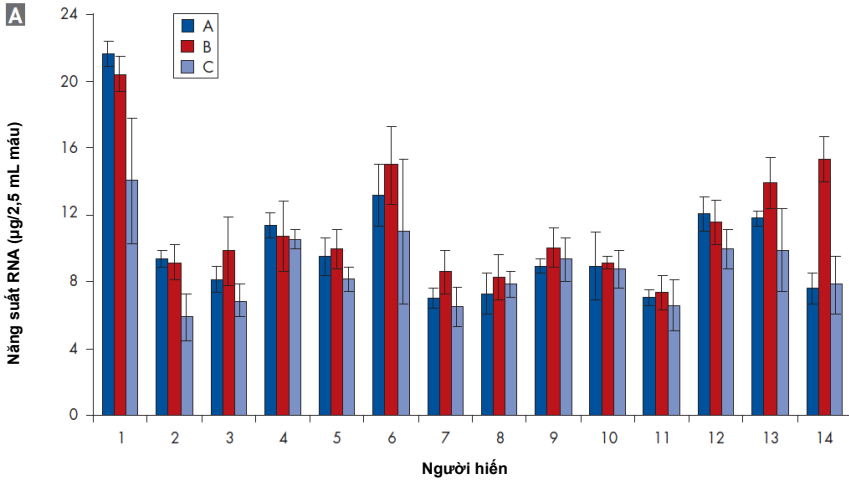
## Tách RNA thủ công

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 real-time PCR định lượng của trình tự gen beta-actin. Ít nhất 95% mẫu không bị ức chế trong RT-PCR khi chất rửa giải chiếm đến 30% thể tích phản ứng RT-PCR.

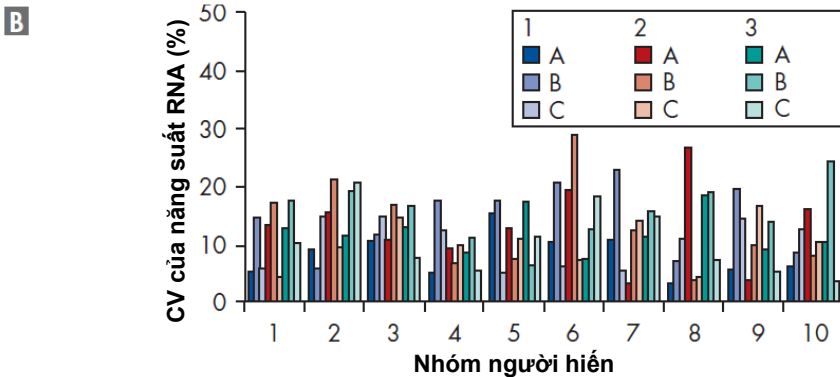
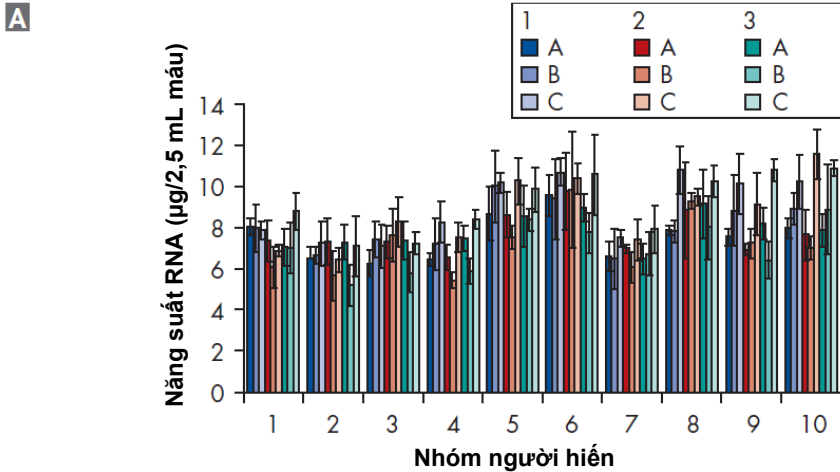
Sử dụng giao thức thủ công, thời gian chuẩn bị mẫu trung bình (dựa trên dữ liệu từ 12 lần chạy chuẩn bị mẫu) là khoảng 90 phút\*, với chỉ 40 phút thực hiện. Năng suất RNA từ 2,5 mL máu toàn phần ở người khỏe mạnh là  $\geq 3 \mu\text{g}$  cho  $\geq 95\%$  mẫu được xử lý. Vì năng suất phụ thuộc nhiều 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 8 và Hình 9, trang 45 và 46, tương ứng) và RT-PCR có khả năng tái lập và lặp lại (Hình 10 và 11, trang 51 và 52), khiến hệ thống hoàn toàn phù hợp cho các xét nghiệm chẩn đoán lâm sàng.

Hình 8 (trang 45) 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 Tubes (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 9, trang 46).

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



**Hình 8: Tách 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 9: 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 Tubes (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 RNA và xử lý bốn mẫu trùng lặp từ mỗi trong số 10 nhóm người hiến. **[A]** Năng suất RNA và độ lệch chuẩn cho mọi kết hợp người vận hành–lô. Bốn mẫu máu trùng lặp từ 10 nhóm người hiến được xử lý bởi 3 người vận hành khác nhau (A, B, C) với mỗi trong số 3 lô bộ dụng cụ (1, 2, 3). Năng suất trung bình (cột) 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 9A.

**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 ( $5,1 \times 10^6$ tế bào/mL)			Nhóm người hiến 6 ( $6,5 \times 10^6$ tế bào/mL)		
	Năng suất trung bình ( $\mu\text{g}$ )	SD ( $\mu\text{g}$ )	CV (%)	Năng suất trung bình ( $\mu\text{g}$ )	SD ( $\mu\text{g}$ )	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 ( $8,4 \times 10^6$ tế bào/mL)			Nhóm người hiến 10 ( $10,2 \times 10^6$ tế bào/mL)		
	Năng suất trung bình ( $\mu\text{g}$ )	SD ( $\mu\text{g}$ )	CV (%)	Năng suất trung bình ( $\mu\text{g}$ )	SD ( $\mu\text{g}$ )	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 ( $5,1 \times 10^6$ tế bào/mL)			Nhóm người hiến 6 ( $6,5 \times 10^6$ tế bào/mL)		
	Năng suất trung bình ( $\mu\text{g}$ )	SD ( $\mu\text{g}$ )	CV (%)	Năng suất trung bình ( $\mu\text{g}$ )	SD ( $\mu\text{g}$ )	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
	Nhóm người hiến 9 ( $8,4 \times 10^6$ tế bào/mL)			Nhóm người hiến 10 ( $10,2 \times 10^6$ tế bào/mL)		
	Năng suất trung bình ( $\mu\text{g}$ )	SD ( $\mu\text{g}$ )	CV (%)	Năng suất trung bình ( $\mu\text{g}$ )	SD ( $\mu\text{g}$ )	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



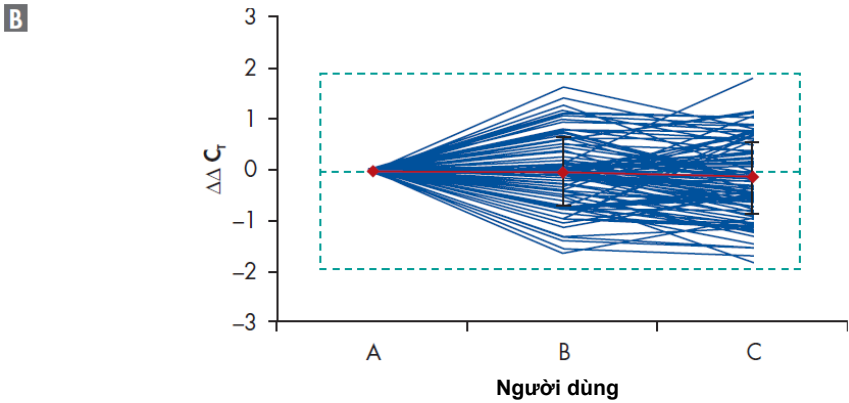
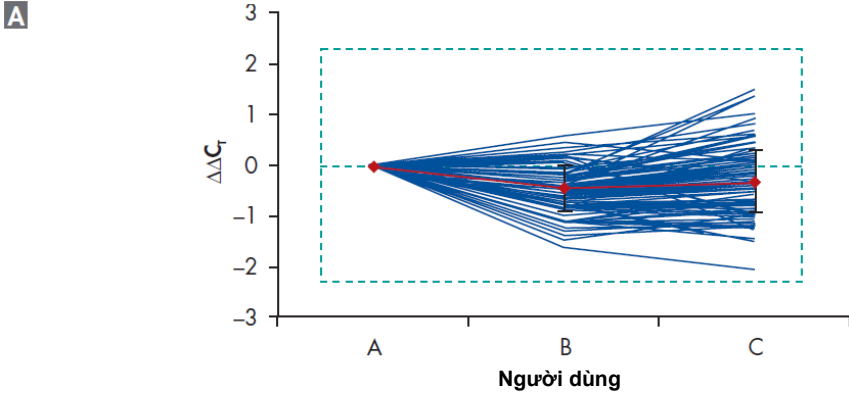
**Bảng 1C: Khả năng tái lập trong mỗi lô và giữa tất cả các người dùng đối với các nhóm người hiến đã chọn (1, 6, 9, 10)**

Kết hợp dữ liệu	Nhóm người hiến 1 ( $5,1 \times 10^6$ tế bào/mL)			Nhóm người hiến 6 ( $6,5 \times 10^6$ tế bào/mL)		
	Năng suất trung bình ( $\mu\text{g}$ )	SD ( $\mu\text{g}$ )	CV (%)	Năng suất trung bình ( $\mu\text{g}$ )	SD ( $\mu\text{g}$ )	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
	Nhóm người hiến 9 ( $8,4 \times 10^6$ tế bào/mL)			Nhóm người hiến 10 ( $10,2 \times 10^6$ tế bào/mL)		
	Năng suất trung bình ( $\mu\text{g}$ )	SD ( $\mu\text{g}$ )	CV (%)	Năng suất trung bình ( $\mu\text{g}$ )	SD ( $\mu\text{g}$ )	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

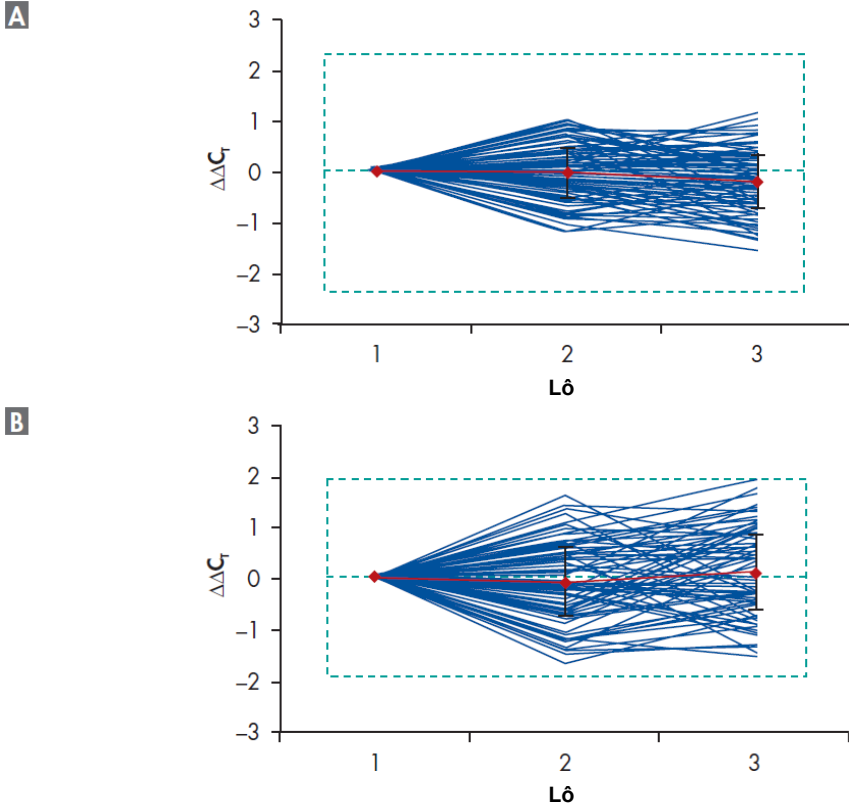
**Bảng 1D: Khả năng tái lập giữa tất cả các lô và tất cả các người dùng cho các nhóm người hiến đã chọn (1, 6, 9, 10)**

Kết hợp dữ liệu	Nhóm người hiến 1 ( $5,1 \times 10^6$ tế bào/mL)			Nhóm người hiến 6 ( $6,5 \times 10^6$ tế bào/mL)		
	Năng suất trung bình ( $\mu\text{g}$ )	SD ( $\mu\text{g}$ )	CV (%)	Năng suất trung bình ( $\mu\text{g}$ )	SD ( $\mu\text{g}$ )	CV (%)
Lô 1, tất cả người dùng	7,44	1,09	15	9,66	1,65	17
	Nhóm người hiến 9 ( $8,4 \times 10^6$ tế bào/mL)			Nhóm người hiến 10 ( $10,2 \times 10^6$ tế bào/mL)		
	Năng suất trung bình ( $\mu\text{g}$ )	SD ( $\mu\text{g}$ )	CV (%)	Năng suất trung bình ( $\mu\text{g}$ )	SD ( $\mu\text{g}$ )	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 10: Khả năng tái lập của RT-PCR — giữa các người dùng.** RNA được tinh sạch trong thí nghiệm được mô tả trong Hình 9 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  $\times$  3 lô bộ dụng cụ  $\times$  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 11: Khả năng tái lập của RT-PCR — giữa các lô bộ dụng cụ.** RNA được tinh sạch trong thí nghiệm được mô tả trong Hình 9 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 × 3 người dùng × 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 10 và Hình 11**

Hệ thống xét nghiệm	Xét nghiệm FOS/18S rRNA		Xét nghiệm IL1B/18S rRNA	
So sánh dữ liệu	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 10 và Hình 11.

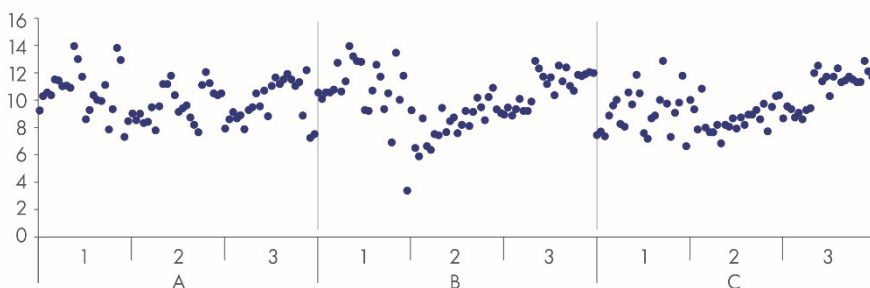
## Tách RNA tự động

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 54) 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 Tubes (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, trang 54).

Ít nhất 95% mẫu không bị ức chế trong RT-PCR khi chất rửa giải chiếm đến 30% thể tích phản ứng RT-PCR. 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.

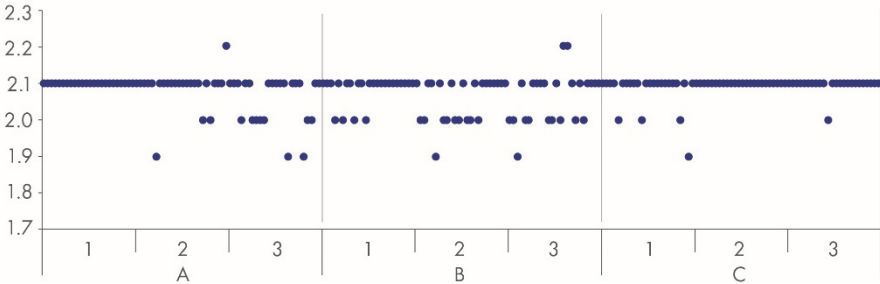
RNA được tách bằng PAXgene Blood RNA System và giao thức tự động là tinh khiết, thể hiện qua việc thiếu ức chế RT-PCR và các giá trị  $A_{260}/A_{280}$  nằm trong khoảng từ 1,8 đến 2,2. DNA hệ gen hiện diện ở mức  $\leq 1\%$  (w/w) trong  $\geq 95\%$  tất cả các mẫu, được đo bằng real-time PCR định lượng của trình tự gen beta-actin. Hình 13 và Hình 14 (trang 55) 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.

Năng suất RNA ( $\mu\text{g}/2,5\text{ mL}$  máu) QIAcube Connect MDx



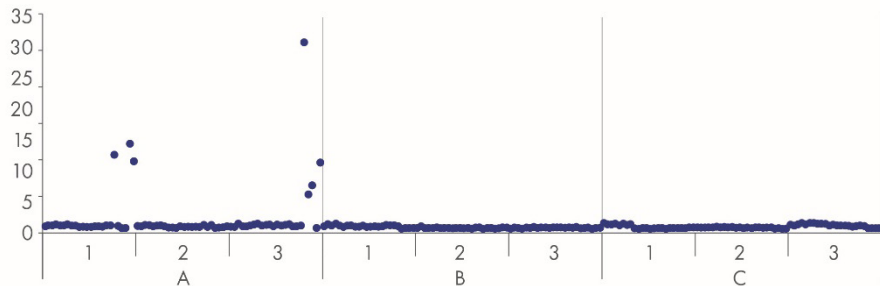
**Hình 12: Năng suất RNA — xử lý tự động với QIAcube Connect MDx.** Mẫu máu của từng người hiến được thu trong PAXgene Blood RNA Tubes (BRT). Thành phần của các ống được nhóm thành 6 nhóm người hiến và sau đó được phân chia lại. Tổng cộng 216 ống (tức là, 36 ống mỗi nhóm) được xử lý bởi 3 người vận hành 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 tự động bằng 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.

Độ tinh khiết RNA ( $A_{260}/A_{280}$ ) QIAcube Connect MDx



**Hình 13: Độ tinh khiết RNA (các giá trị  $A_{260}/A_{280}$ ) — xử lý tự động với QIAcube Connect MDx.** RNA được tinh sạch 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 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.

DNA hệ gen (w/w) [%] QIAcube Connect MDx



**Hình 14: Độ tinh khiết RNA (% nhiễm bản DNA hệ gen) — xử lý tự động với QIAcube Connect MDx.** RNA được tinh sạch 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 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 tách RNA tự động sử dụng PAXgene Blood RNA System cung cấp kết quả RT-PCR có khả năng tái lập và lặp lại cao khiến hệ thống hoàn toàn phù hợp cho các xét nghiệm chẩn đoán lâm sàng.

## Tính ổn định của RNA được tách

Các mẫu RNA được tách từ PAXgene Blood RNA Tubes chứa đầy máu bằng PAXgene Blood RNA Kit ổn định trong 5 năm bảo quản ở  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  và 7 năm bảo quản ở  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  (điểm cuối của nghiên cứu).



# Lưu ý Quan trọng

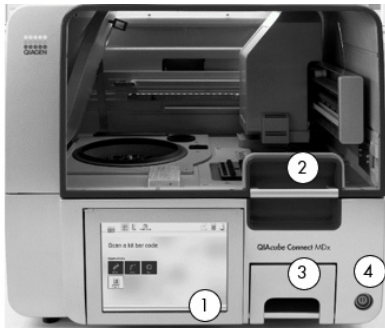
## Sử dụng QIAcube Connect MDx

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

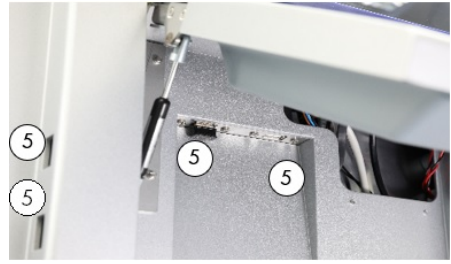
## Bắt đầu QIAcube Connect MDx

Đóng nắp QIAcube Connect MDx, và bật dụng cụ bằng công tắc nguồn (xem Hình 15, trang 58).

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 (bên trái)



Mặt sau của QIAcube Connect MDx (bên phải)

Hình 15: Các tính năng bên ngoài của QIAcube Connect MDx.

- |   |  |
|---|--|
| <p>① Màn hình cảm ứng</p> <p>② Nắp che</p> <p>③ Ngăn chứa chất thải</p> <p>④ Công tắc nguồn</p> | <p>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)</p> <p>⑥ Cổng Ethernet RJ-45</p> <p>⑦ Ổ cắm dây điện</p> <p>⑧ Cửa ra khí làm lạnh</p> |
|---|--|

## Màn hình cảm ứng

QIAcube Connect MDx được điều khiển bởi một 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 16: Màn hình cảm ứng được kéo ra của QIAcube Connect MDx.

## Cài đặt giao thức trên QIAcube Connect MDx

Có thể yêu cầu cài đặt giao thức ban đầu trước khi có thể thực hiện lần chạy chuẩn bị RNA đầu tiên trên QIAcube Connect MDx. 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](http://www.qiagen.com) và cần được tải xuống thẻ USB đi kèm với dụng cụ. Các giao thức này sẽ được chuyển đến dụng cụ thông qua cổng USB.

Cổng USB (nằm ở bên cạnh màn hình cảm ứng; xem Hình 15, trang 58) cho phép kết nối QIAcube Connect MDx với thanh USB đi kèm với dụng cụ. Các tệp dữ liệu, chẳng hạn như tệp nhật ký hoặc tệp báo cáo cũng có thể được chuyển qua cổng USB từ dụng cụ 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 QIAcube Connect MDx, vui lòng xem hướng dẫn sử dụng dụng cụ.

## Nạp QIAcube Connect MDx

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 “Quy trình: Tách Tự động RNA Toàn phần từ Máu Toàn phần ở Người được Thu vào PAXgene Blood RNA Tubes (BRT)”, trang 31.

### Chai thuốc thử

Trước mỗi lần chạy trên QIAcube Connect MDx, cẩn thận đổ thuốc thử vào 4 chai thuốc thử được liệt kê trong Bảng 3 (trang 61) 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 như hình minh họa (Hình 17 và Hình 18, trang 61 và 62, tương ứng).



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.



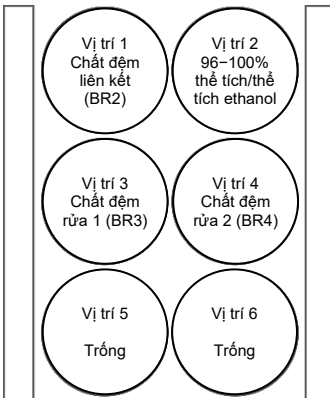
Thể tích chất đệm được cung cấp trong PAXgene Blood RNA Kit (50) đủ cho tối đa 7 lần chạy chuẩn bị RNA trên QIAcube Connect MDx với số lượng mẫu từ 2 đến 12 mỗi lần chạy. Nói chung, nên tránh các lần chạy với số lượng mẫu nhỏ trong mỗi lần chạy để xử lý tổng số 50 mẫu cho mỗi bộ dụng cụ. Hơn 7 lần chạy 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	Ethanol (96–100% thể tích/thể tích)
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% thể tích/thể tích, độ tinh khiết p.a.), như được chỉ định trên chai, để thu được dung dịch làm việc.

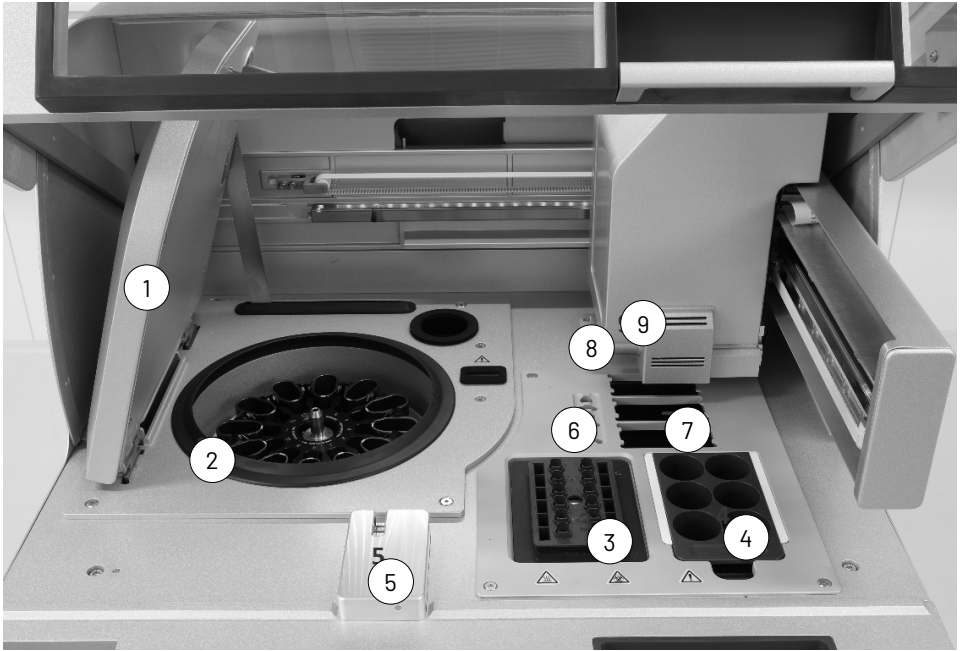
**A**



**B**



**Hình 17: 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 QIAcube Connect MDx.



Hình 18: Mặt trong của QIAcube Connect MDx.

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

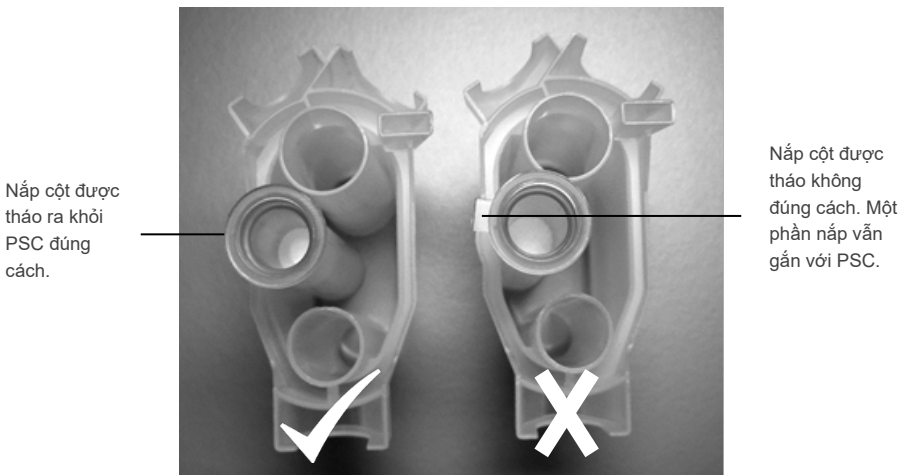
## Cột quay (PSC, PRC), MCT và đồ nhựa của QIAcube Connect MDx

Đặt 2 giá đỡ đầu tip chứa đầy Filter-Tips 1000  $\mu$ L lên QIAcube Connect MDx (xem Hình 18, trang 62). Bổ sung đầu tip vào giá đỡ khi cần thiết.

**i** Chỉ sử dụng đầu tip bộ lọc 1.000  $\mu$ L được thiết kế để sử dụng với QIAcube Connect MDx.

Ghi nhãn bộ tiếp hợp rôto và MCT cho mỗi mẫu bằng bút không phai. Mở PSC được sử dụng và cắt hoàn toàn nắp bằng kéo (xem Hình 19).

**i** Để vận hành chính xác tay kẹp người máy của QIAcube Connect MDx, hãy tháo (cắt bỏ) hoàn toàn các nắp và tất cả các bộ phận bằng nhựa kết nối nắp với PSC (xem Hình 19). Nếu không, tay kẹp người máy không thể kẹp PSC đúng cách.



**Hình 19: Nắp PSC.** PSC nắp vào vị trí giữa của bộ tiếp hợp rôto. Cắt bỏ nắp của PSC trước khi nắp cột.

Nạp PSC (không có nắp, xem Hình 19, trang 63), PRC và MCT 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 20.

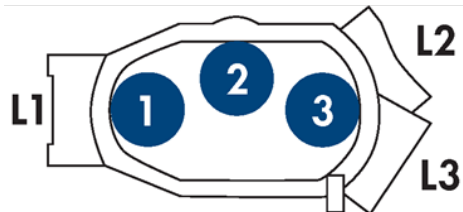


Đảm bảo rằng nắp cột quay (PRC) và MCT được đẩy hết cỡ xuống đáy của các khe ở mép bộ tiếp hợp rôto, nếu không các nắp sẽ bị vỡ trong quá trình ly tâm.

**Bảng 4: Vật tư tiêu hao bằng nhựa 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	MCT*	L3

\* Sử dụng MCT (1,5 mL) có trong PAXgene Blood RNA Kit.



**Hình 20: Các vị trí trong bộ tiếp hợp rôto.** Bộ tiếp hợp rôto có 3 vị trí ống (1–3) và ba vị trí nắp (L1–L3).



## Nạp máy ly tâm

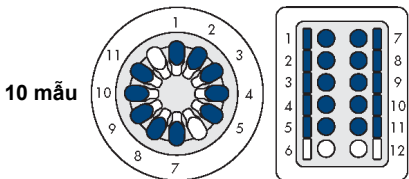
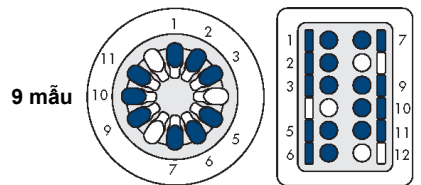
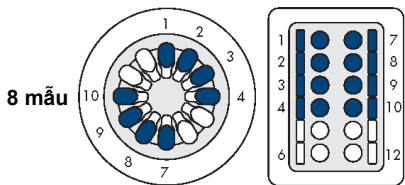
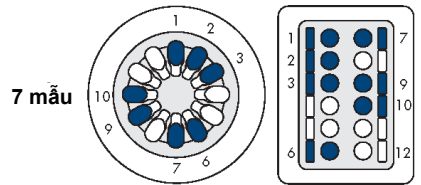
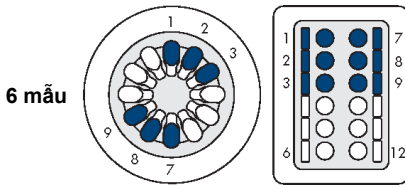
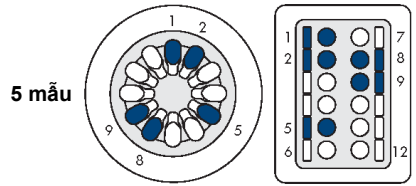
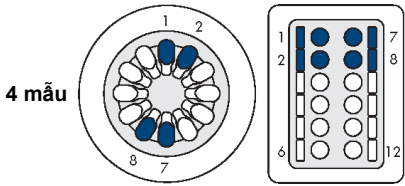
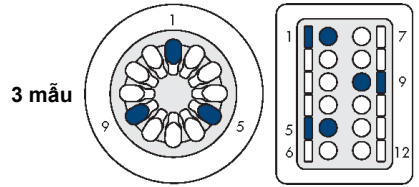
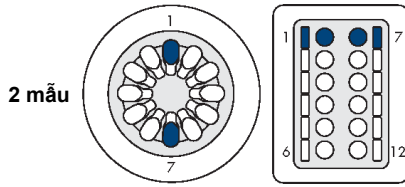
Nạp các bộ điều hợp rôto đã lắp ráp vào thùng máy ly tâm của QIAcube Connect MDx như thể hiện trong Hình 21 bên dưới.



Nếu xử lý ít hơn 12 mẫu, hãy đảm bảo nạp rôto ly tâm cân bằng xuyên tâm (xem Hình 22, trang 66). 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 21: Nạp máy ly tâm vào QIAcube Connect MDx. Nạp các bộ điều hợp rôto đã lắp ráp vào thùng máy ly tâm.



**Hình 22: Nạp máy ly tâm và máy hấp lắc.** Vị trí máy ly tâm và máy hấp lắc 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 lắc đều được nạp (hình ảnh không được hiển thị).

## Ống xử lý

Loại bỏ bất kỳ PT nào còn lại trong các khe MCT từ các lần chạy trước (xem Hình 18, trang 62). Đổ đầy 3 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 một 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 1.000 µL.



Sử dụng các 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 MCT, như được chỉ ra trong Bảng 6 (trang 68).



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 PT cho các khe MCT**

Số lượng mẫu	Thể tích thuốc thử cho số lượng mẫu đã chỉ định (µL)		
	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)	1.004
12	558	921 (115 DNase I + 806 Buffer RDD)	1.177

**Bảng 6: Khe MCT**

	Vị trí		
	A	B	C
Thành phần	Proteinase K	Hỗn hợp ủ DNase I	Chất đệm rửa giải (BR5)
Vật chứa	Ống xử lý*	Ống xử lý*	Ống xử lý*

\* Sử dụng các PT 2 mL có trong PAXgene Blood RNA Kit.

# Xử lý

Để xử lý an toàn sau khi lấy bệnh phẩm và tách RNA thủ công, vui lòng tham khảo thông tin an toàn và các biện pháp phòng ngừa trên các trang 18 và 19, tương ứng.

Ngoài ra, để tách RNA tự động bằng QIAcube Connect MDx, vui lòng tham khảo Hình 21 và Hình 22, trang 65 và 66, tương ứng, chỉ ra các khe dành riêng cho các đầu tip và cột đã sử dụng để xử lý.

# Tài liệu tham khảo

Rainen L, Oelmueller U, Jurgensen S, Wyrich R, Ballas C, Schram J, Herdman C, Bankaitis-Davis D, Nicholls N, Trollinger D, Tryon V (2002) Stabilization of mRNA expression in whole blood samples. Clin. Chem. 48, 1883-90.







Sambrook J and Russell D W (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

International Organization for Standardization (2019) Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for pre-examination processes for venous whole blood — Part 1: Isolated cellular RNA (ISO Standard No. 20186-1:2019).

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.

# 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	
<b>RNA bị suy biến</b>	
a) Nhiễm bản RNase	 Cần 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 76).
<b>Năng suất RNA thấp</b>	
b) 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 <i>Sổ tay PAXgene Blood RNA Tube</i> )
c) 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 77).
d) Các mảnh vụn tế bào được chuyển đến 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).
e) 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.
f) 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.

\* 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

### Giá trị $A_{260}/A_{280}$ thấp

- |   |   |
|---|---|
| g) 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 77).  |
| h) Máy đo quang phổ không được đưa về không đúng cách         |  Đưa máy đo quang phổ về không bằng cách sử dụng dung dịch trắng 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




- |  |   |
|--|---|
| i) QIAcube Connect MDx không hoạt động bình thường | Đọc <i>Hướng dẫn Sử dụng QIAcube Connect MDx</i> , chú ý đến phần Xử lý sự cố. Đảm bảo rằng các dụng cụ được bảo trì đúng cách, như được mô tả trong hướng dẫn sử dụng. |
|--|---|

\* Wilfinger, W.W., Mackey, M. và Chomczynski, P. (1997) Ảnh hưởng của pH và cường độ ion đến việc đo quang phổ đánh giá độ tinh khiết của axit nucleic. *BioTechniques* 22, 474.



# Biểu tượng

Các biểu tượng sau đây có thể xuất hiện trong các hướng dẫn sử dụng hoặc trên bao bì và nhãn dán. Các biểu tượng bổ sung được giải thích trong Thành phần bộ dụng cụ (trang 6).

Biểu tượng	Định nghĩa biểu tượng
V<N1>	Phiên bản <N1> của sản phẩm
 <N2>	Chứa thuốc thử đủ cho các xét nghiệm <N2>
	Tham khảo hướng dẫn sử dụng
	Hạn sử dụng
<b>IVD</b>	Thiết bị y tế chẩn đoán trong ống nghiệm
<b>REF</b>	Số danh mục
<b>LOT</b>	Số lô
<b>MAT</b>	Số vật liệu
<b>COMP</b>	Thành phần
<b>NUM</b>	Số
<b>KU</b>	Đơn vị Kunitz
<b>ADD</b>	Thêm
<b>CONT</b>	Chứa
<b>RCNS</b>	Đã hoàn nguyên

**DNase**

Deoxyribonuclease I

**EtOH**

Ethanol

**GITC**

Guanidin isothiocyanate

**RNase-Free DNase Set**

Bộ DNase Không có RNase

**GTIN**

Mã số Thương phẩm Toàn cầu



Giới hạn nhiệt độ



Giới hạn trên của nhiệt độ



Nhà sản xuất

**EC REP**

Đại diện được ủy quyền tại Châu Âu theo Quy định (EU) 2017/746



Lưu ý quan trọng



Bổ sung ethanol



Nhãn CE. Sản phẩm này đáp ứng các yêu cầu của Quy định (EU) 2017/746 đối với các thiết bị y tế chẩn đoán trong ống nghiệm.

**UDI**

Mã định danh thiết bị duy nhất



Thận trọng



CẢNH BÁO: Bề mặt nóng

# Thông tin Liên hệ

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 xem Trung tâm Hỗ trợ Kỹ thuật của chúng tôi tại **[www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support)**, gọi 00800-22-44-6000 hoặc liên hệ với một trong các Bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN hoặc các nhà phân phối địa phương (xem bìa sau hoặc truy cập **[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)**).

# 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 tách. 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. và 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 78), 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.

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

\* 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 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. và Chomczynski, P. (1997) Ảnh hưởng của pH và cường độ ion đến việc đo quang phổ đánh giá độ tinh khiết của axit nucleic. *BioTechniques* 22, 474.

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



Các khuyến cáo sau đây của BD có thể hữu ích khi xử lý PAXgene Blood RNA Tubes (BRT). Xem *Sổ tay PAXgene Blood RNA Tube* để biết thêm thông tin về PAXgene Blood RNA Tubes (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 nới lỏng.
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 nới 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. **Cẩn thận 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	Mục lục	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 để tự động tách RNA trên QIAcube</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 (1.024); đầu tip bộ lọc 1.000 µL (1.024); đầu tip bộ lọc 1.000 µL, lỗ rộng (1.024); 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 QIAcube	990393
Rotor Adapters (10 × 24)	Cho 240 lần chuẩn bị: 240 Bộ tiếp hợp Rôto Dùng một lần; để sử dụng với QIAcube	990394
Reagent Bottle Rack	Giá đỡ chứa 6 chai thuốc thử 30 mL trên bàn làm việc QIAcube	9026197
Rotor Adapter Holder	Giá đỡ cho 12 bộ tiếp hợp rôto dùng một lần; để sử dụng với QIAcube	990392
<b>Các sản phẩm liên quan có thể đặt hàng từ BD để lấy máu bằng PAXgene Blood RNA Tubes (BRT)*</b>		
BD Vacutainer® Safety Lok™ Blood Collection Set	21G, 0.75 inch (0.8 × 19 mm) needle, 12 inch (305 mm) tubing with luer adapter; 50 mỗi hộp, 200 mỗi ngăn	367286/ 367281
BD Vacutainer® Push Button Blood Collection Set	Kim 21G 3/4 inch (0,8 × 19 mm), ống 12 inch (305 mm) có bộ điều hợp luer. 50/hộp, 200/ngăn	367344

Sản phẩm	Mục lục	Số danh mục
BD Vacutainer One-Use Holder	Ngăn chỉ dành cho đường kính 13 mm và 16 mm; 1.000/ngăn	364815
BD Vacutainer Plus Serum Tubes	Ngăn 4,0 mL, kích thước 13 × 75 mm với vỏ BD Hemogard màu đỏ và nhãn giấy; 100/hộp, 1.000/ngăn	368975/ 367812
BD Vacutainer EST Tube	Ngăn 3,0 mL, kích thước 13 × 75 mm với vỏ BD Hemogard trong suốt và nhãn trong suốt; 100/hộp, 1.000/ngăn	362725
BD Vacutainer No Additive (Z) Tube	Ngăn 3,0 mL, kích thước 13 × 75 mm với vỏ BD Hemogard trong suốt và nhãn giấy; 100/hộp, 1.000/ngăn	366703

\* Các phụ kiện lấy máu này đại diện cho các sản phẩm điển hình có thể được sử dụng với PAXgene Blood RNA Tubes (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).

# Lịch sử Sửa đổi Tài liệu

Ngày	Sửa đổi
[Sửa đổi lần 1] Tháng 4 năm 2022	Phát hành IVDR lần đầu
[Sửa đổi lần 2] Tháng 2 năm 2023	Địa chỉ đường của PreAnalytiX GmbH đã thay đổi từ "Feldbachstrasse" thành "Garstligweg 8". Đã thêm sản phẩm BD vào Thông tin đặt hàng. Đã cập nhật Thông tin an toàn.

## Lưu ý



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 của QIAGEN hoặc nhà phân phối tại địa phương của bạn.

**Better samples**  
**More to explore**

 **PreAnalytiX**  
A QIAGEN / BD Company

Khám phá thêm tại: [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com)

HB-3009-002 02/2023

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