Promega

기 술 설 명 서

Maxwell® CSC RNA Blood Kit

제품 사용 지침서
AS1410

주의: 카트리지를 주의하여 취급하십시오. 씰 부분의 모서리가 날카로울 수 있습니다.

PROMEGA
2800 Woods Hollow Rd.
Madison, WI USA

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany

제품 사용 지침서
AS1410

IVD

개정 3/21
TM434

Promega

Maxwell® CSC RNA Blood Kit

모든 기술 관련 문헌은 www.promega.com/protocols/ 에서 이용하실 수 있습니다.
본 기술 설명서의 최신 버전을 사용하고 있는지 확인하기 위해 웹 사이트를 방문하십시오.
본 시스템의 사용에 대해 궁금한 점이 있으면 Promega Technical Services(techserv@promega.com)로 이메일을 보내 주십시오.

1. 설명 1
2. 제품 구성품, 보관 조건 및 기호 키 2
3. 제품 사용 목적 5
4. 제품 사용 시 제한 사항 5
5. 시작하기 전에: 용액의 준비 6
6. EDTA 수집 튜브에 있는 신선한 전혈에서 RNA 정제하기 6
   6.A. 전혈 샘플의 전 처리 7
   6.B. Maxwell® CSC RNA 혈액 카트리지 준비 8
7. 기기 실행 10
8. 정제 후 12
9. 문제해결 12
10. 리보뉴클레아제가 없는 환경 만들기 14
11. 참고 자료 14
12. 관련 제품 15
13. 변경 사항 요약 15

Maxwell® CSC RNA Blood Kit는 특정 국가에서만 사용할 수 있습니다. 본 제품은 체외 진단 의료 기기에 대한 EU 지침 98/79/EC의 필수 요건을 충족합니다.

1. 설명

Maxwell® CSC RNA Blood Kit[a]는 EDTA 튜브에 채취된 신선한(냉동되지 않은) 인간 전혈에서 유래하는 RNA를 효율적이며 자동화된 방법으로 간편하게 정제하는 표 1에 명시된 Maxwell® Instrument와 함께 사용합니다. Maxwell® CSC Instrument는 미리 프로그램된 정제법과 함께 키트에 제공된 미리 분배된 시약 카트리지와 추가 시약을 함께 사용하도록 설계되어 있어, 단순성과 편의성 측면에서 효과적입니다. Maxwell® CSC Instrument는 약 60분 동안 1개에서 최대 샘플 수까지 처리할 수 있으며, 정제된 RNA는 RT-PCR 등 다양한 증폭 기반 후속 응용분야에 직접 사용할 수 있습니다.

1. 설명(계속)

표 1. 지원 장비

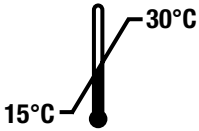
장비	Cat.#	기술 설명서
Maxwell® CSC	AS6000	TM457
Maxwell® CSC 48	AS8000	TM623

Maxwell® CSC RNA Blood Kit는 RNA의 샘플 포획, 세척 및 정제를 최적화하는 이동성 고체상을 제공하는 상자성 입자를 사용하여 RNA를 정제합니다. Maxwell® CSC Instrument는 자성 입자 처리 기기입니다. 이 시스템은 미리 채워진 카트리지의 첫 번째 웰에 있는 상자성 입자와 RNA를 효율적으로 결합시키고 카트리지의 웰을 통해 샘플을 이동시킵니다. 이러한 자성 포획의 접근 방식은 팁이 막히거나 시약의 일부만 전달하는 등 액체 처리 시스템과 연관된 일반적인 문제를 방지할 수 있습니다. 이런 문제들은 다른 일반적으로 사용되는 시스템에서 부적절한 정제 처리를 야기합니다.

2. 제품 구성품, 보관 조건 및 기호 키

제품	크기	CAT.#
Maxwell® CSC RNA Blood Kit	**48회 전처리**	**AS1410**

체외 진단용. 전문가 전용. 혈액 샘플로부터 48회 자동 분리에 충분함. Maxwell® CSC 카트리지는 일회용입니다.



포함 품목:

- 48 Maxwell® CSC RNA 혈액 카트리지
- 4 × 100ml Solution A
- 30ml Solution B
- 20ml Lysis 버퍼
- 바이알 2개 DNase I (lyophilized)
- 900µl 1-Thioglycerol
- 100µl Blue Dye
- 2 × 1ml Proteinase K(PK) 용액
- 25ml Nuclease-Free Water
- 50 CSC/RSC 플런저
- 50 용출 튜브(0.5ml)

보관 조건: 수령 후, 1-Thioglycerol을 제거하고 +2°C~+10°C에 보관하십시오. 다른 키트 구성품은 실온(15°C~30°C)에서 보관하십시오. 1-Thioglycerol은 실온(15~30°C)에서 보관할 수 있으며, 최대 9개월까지 안정적입니다. 재수화된 DNase I은 –30~–10°C에서 보관하십시오. 동결-해동 순환을 10회 이상 하지 마십시오.

안전 정보: 카트리지는 가연성 에탄올을 함유하고 있습니다. 1-Thioglycerol은 독성을 가지고 있습니다. 구아니딘 티오시안산염 및 구아니딘염산(용액 B와 Lysis 버퍼의 구성물)은 유해하며 자극성입니다. 이러한 물질로 작업하는 동안 장갑을 착용하고 표준 안전 절차를 따르십시오.

Maxwell® CSC RNA Blood Kit는 잠재적인 감염 물질과 함께 사용하도록 설계되었습니다. 감염 물질을 취급하는 경우 사용자는 적절한 개인 보호 장비(예: 장갑, 실험실 가운 및 고글)를 착용해야 합니다. 이 시스템에 사용되는 모든 감염 물질을 취급하고 폐기하기 위해 사용자는 해당 연구소의 지침을 준수해야 합니다.

참고: 표백제는 염화암모늄 및 구아디닌 티오시안산염과 반응하여 독성 가스를 생성합니다. 염화암모늄 및 구아디닌 티오시안산염은 각각 용액 A와 용액 B에 존재합니다. 표백제를 사용하여 이 키트에서 폐기물의 오염을 제거하지 마십시오.

주의: 카트리지를 취급하거나 동결 건조된 DNase I 바이알을 개방하는 데 주의하십시오. 모서리가 날카로울 수 있습니다.

추가 정보: Maxwell® CSC RNA Blood Kit의 구성품은 키트와 함께 작동할 수 있도록 적합성 및 품질 관리 검사를 받았습니다. 다른 키트 로트 간에 키트 구성품을 섞어서 사용하는 것은 좋지 않습니다. 키트에 제공된 구성품만 사용하십시오. 추가 안전 정보에 대하여, 다음 주소에 있는 안전보건자료(SDS)를 참조하십시오: **www.promega.com.**

2. 제품 구성품, 보관 조건 및 기호 키(계속)

기호 키

기호	설명	기호	설명
IVD	체외 진단용 의료 기기	EC REP	공인된 대리점
30°C 15°C	15~30°C에서 보관.	PROMEGA 2800 Woods Hollow Rd. Madison, WI USA	제조사
	주의		자극성
	발암 물질		독성
	부식성	Σ n	“n”회 테스트에 충분한 분량 포함
CE	Conformité Européenne		경고. 생물 재해.
	경고. 핀치 포인트 위험.	REF	카탈로그 번호
LOT	로트 번호	2	재사용 금지

3. 제품 사용 목적

Maxwell® CSC RNA Blood Kit는 밀리리터 당 4×10^6~10×10^6 WBC 범위를 가진 백혈구(WBC) 수와 함께 EDTA 수집 튜브에 채취된 2.5ml의 인간 전혈에서 유래하는 RNA의 자동화된 분리를 수행하기 위한 체외 진단(IVD) 의료 장치로, Maxwell® CSC Instrument 및 Maxwell® CSC RNA 혈액 정제법과 함께 사용할 수 있습니다. 정제된 RNA는 증폭 기반 체외 진단 분석에 사용하기에 적합합니다.

Maxwell® CSC RNA Blood Kit는 2.5ml의 인간 전혈과 함께 사용할 수 있습니다. Maxwell® CSC RNA Blood Kit는 15°C~30°C 사이 온도에서 사용하게 되어 있습니다. 이 온도 범위를 벗어나는 사용은 부적절한 결과를 야기할 수 있습니다.

Maxwell® CSC RNA Blood Kit는 특정 진단 시험의 일부로 사용할 수 없습니다.

Maxwell® CSC RNA Blood Kit는 전문적인 목적으로만 사용할 수 있습니다. 이 시스템으로 정제된 RNA를 사용하여 획득한 진단 결과는 다른 임상 또는 실험실 데이터와 연계하여 해석되어야 합니다.

4. 제품 사용 시 제한 사항

Maxwell® CSC RNA Blood Kit는 EDTA 튜브에 채취된 인간의 전혈 샘플만 사용할 수 있습니다. 골수 또는 연막, 다른 수집 튜브에 보관된 샘플, 또는 제품 청구 사항에 나와 있지 않은 방법으로 보관된 샘플 등 비 전혈 샘플 용도로 사용할 수 없습니다.

Maxwell® CSC RNA Blood Kit는 비 인간 샘플 또는 DNA 정제용으로 사용할 수 없습니다.

Maxwell® CSC RNA Blood Kit의 성능은 EDTA 수집 튜브에 있는 2.5ml의 인간 전혈에서 유래하는 RNA 분리에 대하여 평가되었습니다. 2.5ml을 벗어나는 샘플에는 사용할 수 없습니다. EDTA 튜브 외의 수집 튜브에 있는 전혈에는 사용할 수 없습니다. 밀리리터 당 4×10^6 WBC 이하의 샘플 또는 밀리리터 당 10×10^6 WBC 이상의 샘플에는 사용할 수 없습니다.

후속 진단 응용분야에 필요한 성능 특성을 확립하는 것은 사용자의 책임입니다. Maxwell® CSC RNA Blood Kit로 정제한 RNA를 사용하는 후속 진단 응용분야는 적절하게 제어되어야 합니다.

5. 시작하기 전에: 용액의 준비

1-Thioglycerol/용액 B

다음 중 하나의 방법으로 1-Thioglycerol/용액 B 혼합액을 제조합니다.

용액 B에 1-Thioglycerol 600µl를 첨가하여 완전히 혼합합니다. 1-Thioglycerol은 점성이 있으므로, 정확한 측정을 위해 조심스러운 피펫팅이 요구됩니다. 사용하기 전에, 1-Thioglycerol/용액 B를 얼음 또는 2~10°C에서 냉각시킵니다.

또는, 용액 B의 밀리리터 당 1-Thioglycerol 20µl를 첨가하여 작은 용량을 준비합니다. 샘플 당 200µl의 냉각된 1-Thioglycerol/용액 B를 준비하십시오.

참고: 준비된 1-Thioglycerol/용액 B를 2~10°C에 보관하십시오. 최대 30일까지 안정적입니다.

DNase I

동결 건조된 DNase I의 바이얼에 Nuclease-Free Water 275µl을 첨가하십시오. 캡의 밑면에서 DNase I을 씻어내기 위해 뒤집고 부드럽게 돌려서 혼합합니다. 볼텍싱하지 않습니다. 피펫팅과 카트리지 준비를 시각적으로 돕기 위해 재구성된 DNase I에 청색 염료 25µl를 첨가하십시오. 각 정제를 위해 10µl의 준비된 DNase I 용액이 필요합니다. 재구성된 DNase I을 –30°C~–10°C에 보관하십시오. 재구성된 DNase I을 10회 이상 동결-해동하지 마십시오.

주의: DNase I 바이얼을 조심하여 개봉하십시오. 바이얼의 모서리가 날카로울 수 있습니다.

6. EDTA 수집 튜브에 있는 신선한 전혈에서 RNA 정제하기

처리 과정 중에 RNase가 없는 환경을 유지하십시오. 항상 RNase가 없고 에어로졸을 방지하는 피펫 팁을 사용하십시오. RNase 오염의 가능성을 줄이기 위해 자주 장갑을 교체하십시오. 자세한 내용은 섹션 10. 리보뉴클레아제가 없는 환경 만들기를 참조하십시오.

사용자가 준비해야 하는 재료

- EDTA 수집 튜브에 담긴 전혈(냉동되지 않은). 정제하기 전에 혈액은 2~10°C에서 최대 3일까지 보관될 수 있습니다.
- 마이크로 원심분리기
- 10ml 혈청 피펫(멸균)
- 피펫터 및 RNase가 없는, 멸균 에어로졸 방지 피펫 팁
- 15ml 튜브(멸균)
- 스윙 버킷 로터가 장착된 원심분리기

6.A. 전혈 샘플의 전 처리

1. EDTA 수집 튜브에서 멸균된 15ml 튜브로 잘 혼합된 2.5ml의 전혈(냉동되지 않은)을 옮깁니다.
2. 용액 A 7.5ml를 첨가하고, 혼합하기 위해 튜브를 5~10회 뒤집어 주십시오. 이는 차등 세포 용해 단계입니다. 적혈구는 용해되고, 백혈구는 남게 됩니다.
3. 실온에서 10분 동안 용해물을 배양합니다. 배양하는 동안, 2단계와 같이 샘플을 2회 뒤집어서 섞어 주십시오.
4. 스윙-버킷 로터에서 3,000 × *g*로 10분 동안 튜브를 원심분리합니다.
5. 디캔팅 또는 피펫팅으로 상청액을 제거하십시오. 튜브의 바닥에 있는 잔류액을 채취하기 위해 튜브를 간단히 회전시킵니다. 피펫을 이용하여, 보이는 WBC 펠릿을 건드리지 않고 잔여 상청액을 가능한 한 많이 제거한 후 폐기하십시오.
6. 냉각된 1-Thioglycerol/용액 B 200µl를 펠릿에 첨가하고 펠릿을 재현탁하기 위해 볼텍싱합니다.
7. 재현탁된 펠릿에 Lysis 버퍼 200µl와 Proteinase K 25µl를 첨가합니다. 15~20초 동안 볼텍싱하여 혼합합니다.

   참고: 전처리 과정 중에 중단해야 할 경우, 샘플은 7단계 후 –30°C~–10°C에서 최대 5일 동안 보관할 수 있습니다. 이러한 보관 온도에서, 샘플은 완전히 냉동될 수도 냉동되지 않을 수도 있습니다. 샘플 정제를 재개할 준비가 되면, 다음 단계를 진행하기 전에 튜브를 실온에서 10분 동안 해동하십시오.
8. 실온에서 10분 동안 배양합니다. 이때, 섹션 6.B에 기술된 바와 같이 카트리지를 준비합니다.
9. Maxwell® CSC RNA 혈액 카트리지의 웰 #1에 용해물을 첨가합니다(카트리지의 가장 큰 웰).

6.B. Maxwell® CSC RNA 혈액 카트리지 준비

1. Maxwell® CSC RNA 혈액 카트리지, CSC/RSC 플런저 및 용출 튜브를 취급하기 전에 장갑을 교체하십시오. 카트리지는 기기의 외부에 있는 데크 트레이에 설치되며, 카트리지와 샘플을 포함하는 데크 트레이는 정제를 위해 기기로 옮겨집니다. 용출 튜브에서 가장 멀리 떨어져 있는 웰 #1(카트리지의 가장 큰 웰)과 함께 데크 트레이에 각 카트리지를 위치시킵니다(그림 2). 해당 위치에 고정하기 위해 카트리지를 아래로 누릅니다. 두 카트리지 끝이 데크 트레이에 완전히 장착되었는지 확인하십시오. 전체 씰이 카트리지 상단에서 제거되도록 씰을 조심하여 벗겨내십시오. 씰 테이프와 잔여 접착제가 카트리지에서 완전히 제거되었는지 확인하십시오.

   주의: 카트리지를 주의하여 취급하십시오. 씰 부분의 모서리가 날카로울 수 있습니다.

2. CSC/RSC 플런저를 각 카트리지의 웰 #8 에 위치시키십시오.
3. 데크 트레이에 있는 각 카트리지를 위해 용출 튜브 위치로 빈 용출 튜브를 배치하십시오.

   참고: Maxwell® CSC RNA Blood Kit에서 제공된 용출 튜브만 사용하십시오. 다른 용출 튜브는 Maxwell® CSC Instrument와 호환되지 않으며 RNA 정제 성능에 영향을 미칠 수 있습니다.

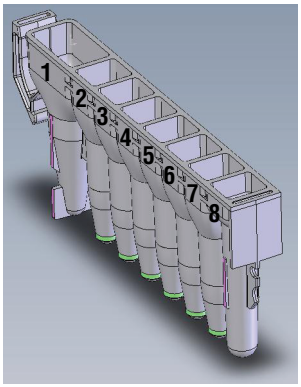
4. 각 용출 튜브의 바닥으로 Nuclease-Free Water 50µl를 첨가하십시오. 용출 튜브는 RNA 정제 과정 동안 개방되어 있어야 합니다.

   참고: Maxwell® CSC RNA Blood Kit에서 제공한 Nuclease-Free Water만 사용하십시오. 다른 용출 튜브를 사용하면 RNA 정제 성능 또는 후속 사용에 영향을 미칠 수 있습니다.

5. 재구성된 DNase I(청색) 10µl를 각 카트리지의 웰 #4(노란색)에 첨가하십시오. 결과적인 녹색은 DNase I 용액이 웰 #4에 첨가되었음을 나타내는 시각적 표시자입니다.

Maxwell® CSC RNA 혈액 카트리지 참고사항

데크 트레이에 유출된 표본 또는 시약 유출액은 세정 용액으로 세척하고 살균 스프레이 또는 와이프를 사용한 후 물로 씻어야 합니다. 기기의 어떠한 부분에도 표백제를 사용하지 마십시오.



사용자가 첨가하는 웰 내용물:

1. 전처리된 샘플 용해물
4. 전처리된 DNase I 10µl
8. CSC/RSC 플런저

그림 1. Maxwell® CSC 카트리지. 전처리된 혈액 샘플 용해물은 웰 #1에 첨가되고, DNase I 10µl는 웰 #4에 첨가되며, CSC/RSC 플런저는 웰 #8에 첨가됩니다.

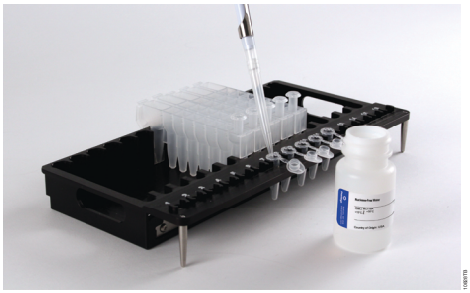


그림 2. 데크 트레이의 설치 및 구성. Nuclease-Free Water(50µl)을 표시된 바와 같이 용출 튜브에 첨가합니다.

7. 기기 실행

Maxwell® CSC Instrument에 대한 Maxwell® CSC RNA 혈액 실행 방법은 Promega 웹사이트에서 다운로드할 수 있습니다: **www.promega.com/resources/tools/maxwellcscmethod**. Maxwell® CSC 48 Instrument에 대한 Maxwell® CSC RNA 혈액 실행 방법은 Promega 웹사이트에서 다운로드할 수 있습니다: **www.promega.com/resources/tools/maxwellcsc48method**

기기가 RNase로 오염되었다고 의심될 경우, Steris LpH®와 같은 세제 용액을 사용하여 실행하기 전에 기기를 세척하십시오. Maxwell® CSC Instrument 작동 설명서의 세척 및 유지관리 섹션에 있는 지침을 따르십시오.

1. Maxwell® Instrument와 태블릿 PC를 켭니다. 태블릿 PC에 로그인하고, 바탕화면에서 아이콘을 더블 터치하여 Maxwell® IVD 모드 소프트웨어를 시작하십시오. 모든 동작 부품에 대한 자기 점검과 제 위치 확인을 통해 장비가 가동됩니다.
2. '홈' 화면에서 **시작**을 선택하십시오.
3. Maxwell® CSC RNA Blood Kit의 라벨의 우측 상단 모서리에 있는 바코드를 스캔하거나 입력하고 **OK**를 눌러 실행할 방법을 자동으로 선택하십시오(그림 3).

   참고: Maxwell® CSC Instrument에서 RNA 정제를 하기 위해 Maxwell® CSC RNA Blood Kit 방법 바코드는 필수입니다. 키트 라벨에는 두 개의 바코드가 있습니다. 방법 바코드는 그림 3에 표시되어 있습니다. 바코드를 스캔할 수 없으면, Promega Technical Services로 연락하십시오.

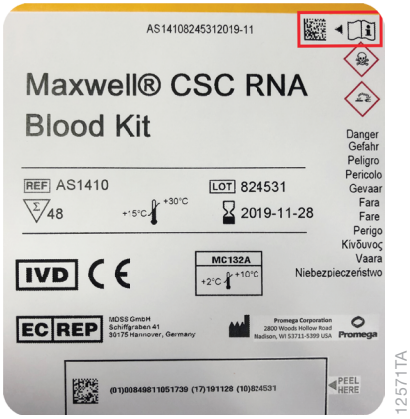


그림 3. 스캔용 바코드를 표시하는 키트 라벨. 정제 실행 시작을 위한 스캔용 바코드는 키트 라벨에서 빨간색 상자 안에 있습니다.

4. '카트리지 설정' 화면에서 카트리지 위치를 터치하여 추출 실행에 사용할 모든 위치를 선택/선택 해제합니다. 필요한 샘플 추적 정보를 모두 입력하고 **진행** 버튼을 눌러 계속합니다.

   참고: Maxwell® CSC 48 Instrument를 사용할 때, **앞으로** 그리고 **뒤로** 버튼을 눌러 각 데크 트레이에서 카트리지 위치를 선택 또는 선택 해제할 수 있습니다.

5. 도어가 오픈되면 모든 추출 체크리스트 항목이 수행되었는지 확인하십시오. 전처리된 샘플이 카트리지의 웰 #1에 첨가되었는지, 카트리지가 장비에 로드되었는지, 그리고 뚜껑이 열린 용출 튜브가 용출 버퍼 및 플런저와 함께 웰 #8에 있는지 확인하십시오. 준비된 카트리지를 포함하는 데크 트레이를 Maxwell® Instrument 플랫폼으로 이동시킵니다.

   Maxwell® 데크 트레이 삽입: 데크 트레이에서 카트리지가 이탈되는 것을 방지하기 위해 데크 트레이 측면을 잡으십시오. 도어에 근접한 용출 튜브가 있는 Maxwell® Instrument에 데크 트레이가 위치되어 있는지 확인하십시오. 데크 트레이 후면 각도를 아래쪽으로 낮추어 장비 안으로 넣어 데크 트레이 후면이 장비 플랫폼의 후면에 닿을 수 있게 합니다. 데크 트레이의 전면을 눌러 데크 트레이를 장비 플랫폼에 장착합니다. 데크 트레이를 플랫폼에 맞추기 힘든 경우, 데크 트레이가 올바른 방향으로 되어 있는지 확인하십시오. 데크 트레이가 장비 플랫폼 위에 평평하게 완전히 장착되었는지 확인하십시오.

   참고: 24-위치 Maxwell® 데크 트레이에 있는 식별자를 확인하여 장비의 전면 또는 후면에 배치해야 하는지 여부를 결정하십시오.

6. 표시된 전처리가 모두 실행되었는지 확인하고, 기기의 도어를 닫고 과정을 시작하기 위해 **시작**을 터치하십시오.

   참고: 48-위치 Maxwell® Instrument를 사용할 때, 비전 시스템이 활성화된 경우 도어가 닫히면서 데크 트레이가 스캔됩니다. 데크 트레이 설정의 오류(예: 플런저가 #8 웰에 들어가 있지 않고, 용출 튜브가 존재하지 않거나 열려 있음)는 소프트웨어가 '카트리지 설정' 화면으로 되돌아게 하며, 문제 위치에는 느낌표가 들어간 빨간색 원이 표시됩니다. 오류에 대한 설명은 느낌표를 터치하고 모든 오류 상태를 해결합니다. **시작** 버튼을 다시 터치해 데크 트레이의 스캐닝을 반복하고 추출 작동을 시작합니다.

   경고: 핀치 포인트 위험.

7. Maxwell® Instrument가 즉시 정제를 실행합니다. 수행된 단계와 대략적인 잔여 실행 시간이 스크린에 표시됩니다.

   참고:

   1. **중단** 버튼을 터치하여 실행을 중지합니다. 실행이 중단된 모든 샘플은 손실됩니다.
   2. 실행이 완료되기 전에 중단된 경우, 플런저가 여전히 플런저 막대에 장착되어 있는지 확인하라는 메시지가 표시될 수 있습니다. 플런저 막대에 플런저가 있으면 요청 시 **클린업**을 수행해야 합니다. 플런저 막대에 플런저가 없으면 요청 시 **클린업** 건너뛰기를 선택할 수 있습니다. 이 경우 샘플이 손실됩니다.

8. 실행이 완료되면, 정제가 종료되었음을 알리는 메시지가 사용자 인터페이스에 표시됩니다.

실행 종료

9. 정제 종료 시 도어를 열기 위해 온-스크린 지침을 따르십시오. 실행 종료 시 플런저가 카트리지의 웰 #8에 있는지 확인하십시오. 플런저가 플런저 막대에서 제거되지 않은 경우, Maxwell® Instrument에 대한 작동 설명서(표 1 참조)의 지침에 따라 **클린업** 절차를 수행해 플런저를 장착 해제합니다.

10. 용출액의 증발을 막기 위해 실행 후 RNA를 함유하는 용출 튜브에 즉시 캡을 씌우고 제거하십시오. 기기에서 Maxwell® 데크 트레이를 제거하십시오.

    참고: 기기 플랫폼에서 데크 트레이를 제거하기 위해, 데크 트레이의 측면을 잡으십시오. RNA 샘플은 –30°C~–10°C에서 하룻밤 보관하거나 –60°C 이하에서 장기 보관할 수 있습니다.

    UV 살균 프로토콜을 실행하기 전에 정제된 핵산의 손상을 방지하기 위해 기기에서 샘플을 확실히 제거하십시오.

7. 기기 실행(계속)

11. Maxwell® 데크 트레이에서 카트리지와 플런저를 제거하고, 해당 연구소의 절차에 따라 유해 폐기물을 폐기하십시오. 카트리지, 플런저, 용출 튜브는 일회용입니다. Maxwell® CSC 카트리지, CSC/RSC 플런저 또는 용출 튜브를 재사용하지 마십시오.

8. 정제 후

후속 분석에 사용하기 전에 정제된 RNA 샘플의 수율과 순도가 후속 진단 분석의 입력 요건을 충족하는지 확인하십시오.

9. 문제해결

본 문서에서 해결되지 않는 문제가 있는 경우, 현지 Promega 지사나 대리점으로 문의하십시오. 다음 주소에서 연락처 정보를 확인할 수 있습니다. **www.promega.com**. 이메일: **techserv@promega.com**

증상	가능한 원인과 설명
용출액에서 RNA의 농도가 예상치보다 낮습니다(일반적인 샘플에서 정제된 RNA의 수율은 >50ng/µl입니다.)	혈액 샘플의 WBC 수량이 제품 사용 범위인 4×10^6~10×10^6 WBC/ml 이하이거나 이상입니다. 본 키트는 4×10^6~10×10^6 WBC/ml WBC/ml 범위의 WBC 수를 가진 혈액 샘플에서 유래된 RNA를 가장 잘 정제합니다.
	잘못된 전혈 용량을 사용하였습니다. 전혈을 2.5ml 이상 또는 이하를 첨가하면 낮은 수율을 야기할 수 있습니다.
	혈액 샘플이 너무 오래되었습니다. 최고 수율은 신선한 혈액 샘플에서 얻을 수 있습니다. 샘플을 2~10°C에서 3일 이상 보관하면 수율 감소를 유발할 수 있습니다.
	샘플을 정제하기 전에 2°C 이하 또는 10°C 이상에서 보관하였습니다. 부적절한 보관 온도는 WBC 용해 또는 RNA 분해를 야기할 수 있습니다.
	샘플 처리 또는 정량 과정 동안 RNase가 도입되었을 수 있습니다. 리보클레아제가 없는 환경을 만드는 정보는 섹션 10을 참조하십시오.
	차등 용해 후 불충분한 상청액 제거. 상청액을 가능한 완전히 제거하십시오.
	상청액 제거 중에 WBC 펠릿이 이탈하였습니다. 상청액을 제거하면서 WBC 펠릿을 건드리지 마십시오.
	잘못된 샘플 유형입니다. 본 키트는 인간 전혈에 사용합니다. 본 키트는 다른 샘플 유형(예: 골수, 혈장, 연막 등)에 대해 시험 되지 않았습니다.

증상	가능한 원인과 설명
용출액에서 RNA의 농도가 예상치보다 낮습니다 (계속)	잘못된 혈액 수집 튜브 유형. 본 키트는 EDTA 수집 튜브에 있는 인간 전혈에 사용합니다. 다른 튜브 유형은 본 키트에 대해 시험되지 않았으며 정제 화학과 호환되지 않을 수 있습니다.
낮은 RNA 품질 (용출액은 1.8 이상의 A_{260}/A_{280} 비율을 가져야 하며 A_{260}/A_{230} 비율은 1.8에서 2.4 사이이어야 합니다.)	혈액 샘플의 WBC 수량이 제품 사용 범위인 4×10^6~10×10^6 WBC/ml 이상입니다. 본 키트는 4×10^6~10×10^6 WBC/ml WBC/ml 범위의 WBC 수를 가진 혈액 샘플에서 유래된 RNA를 가장 잘 정제합니다.
	잘못된 전혈 용량을 사용하였습니다. 전혈을 2.5ml 이상 첨가하면 낮은 용출 순도가 발생할 수 있습니다.
	혈액 샘플이 너무 오래되었습니다. 최고 수율은 신선한 혈액 샘플에서 얻을 수 있습니다. 샘플을 2~10°C에서 3일 이상 보관하면 RNA 품질 저하를 유발할 수 있습니다.
	샘플을 정제하기 전에 2°C 이하 또는 10°C 이상에서 보관하였습니다. 부적절한 보관 온도는 WBC 용해 또는 RNA 분해를 야기할 수 있습니다.
	차등 용해 후 불충분한 상청액 제거. 상청액을 가능한 완전히 제거하십시오.
	잘못된 샘플 유형입니다. 본 제품은 인간 전혈에 사용합니다. 본 제품은 다른 샘플 유형(예: 골수, 혈장, 연막 등)에 대해 시험되지 않았습니다.
용출액에 다량의 DNA가 존재합니다 (용출액이 DNA로 오염되었으며, 후속 분석에 영향을 미칠 수 있습니다.)	혈액 샘플의 WBC 수량이 제품 사용 범위인 4×10^6~10×10^6 WBC/ml 이상입니다.
	잘못된 전혈 용량을 사용하였습니다. 2.5ml 이상의 전혈을 첨가하면 용출액이 DNA에 오염될 수 있습니다.
	DNase I이 카트리지에 첨가되지 않았습니다. 가능하면, 사용한 카트리지의 웰 #4을 검사합니다. 섹션 6.B, 5단계에서 DNase I을 카트리지에 첨가하였으면 웰 #4는 녹색(노란색이 아닌)을 나타내야 합니다.
전처리된 용해액의 점성이 피펫하기에 너무 높습니다	혈액 샘플의 WBC 수량이 제품 사용 범위인 4×10^6~10×10^6 WBC/ml 이상입니다.
	잘못된 전혈 용량을 사용하였습니다. 2.5ml 이상의 전혈을 첨가하면 용해액의 점성을 유발하고 피펫이 어렵습니다.

10. 리보뉴클레아제가 없는 환경 만들기

리보뉴클레아제는 불활성이 매우 힘듭니다. 분리하는 동안 그리고 이후, RNA 샘플에 RNase가 활성화되지 않도록 주의하십시오. 이는 출발 물질이 구하기 어렵거나 대체 불가한 경우 특히 중요합니다. 다음 참고사항은 실수로 샘플이 RNase로 오염되는 것을 방지하는 데 도움이 됩니다.

1. RNase 오염의 가장 일반적인 오염원 중 두 가지는 사용자의 손 그리고 부유 분진 입자에 존재할 수 있는 박테리아 또는 곰팡이입니다. 이러한 오염원으로부터 오염을 방지하기 위해, 이 시스템과 함께 제공된 시약을 취급할 때에는 살균 기술을 사용하십시오. 항상 장갑을 착용하십시오. 리보뉴클레아제와 접촉할 때마다 항상 장갑을 교체하십시오.
2. RNA를 취급하기 위해 가능하면 멸균된, 일회용 플라스틱 제품을 사용해야 합니다. 이러한 재료들은 일반적으로 RNase가 없으며 RNase를 불활성화하기 위해 전처리를 할 필요가 없습니다.
3. 사용하기 전에 비멸균 유리 제품, 플라스틱 제품 및 전기영동 챔버를 처리하여 RNase가 없음을 확인하십시오. 유리 제품을 200°C에서 하룻밤 동안 열처리하고, 플라스틱 제품은 0.1N NaOH, 1mM EDTA로 철저히 세정한 후 RNase가 없는 물로 헹굽니다. 제조자의 지침에 따라 상업적으로 시판되는 RNase 제거 제품도 사용할 수 있습니다.

   참고: 전기영동 챔버는 DNA 샘플 분석으로 리보뉴클레아제, 특히 RNase A에 오염될 수 있습니다. 가능하면, 신규 또는 오염되지 않은 기구를 RNA 분석 전용으로 따로 놔두십시오.
4. 본 시스템과 함께 제공되지 않는 용액은 흄 후드에서 0.1%v/v의 디에틸 피로카보네이트(DEPC)를 첨가하여 처리합니다. 후드에서 교반하면서 실온에서 하룻밤 배양합니다. DEPC의 흔적을 제거하기 위해 30분 동안 가압멸균합니다.

   주의: DEPC는 발암성이 의심되므로 화학 흄 후드에서 사용되어야 합니다. DEPC는 아민과 급격한 반응을 하며, Tris 버퍼를 처리하는 데 사용할 수 없습니다.

   참고: 모든 후속 응용 분야를 위해, RNA 샘플을 RNase로부터 지속해서 보호해야 합니다. 깨끗한 장갑을 착용하고 RNase가 없는 용액 및 원심분리 튜브를 사용하십시오.

11. 참고 자료

1. Clinical Laboratory Standards Institute (2007) Handling, transport, and storage of specimens for molecular methods. 이 내용은 다음 주소에서 온라인으로 볼 수 있습니다: **www.clsi.org**
2. Murray, P.R. *et al.* (2007) *Manual of Clinical Microbiology*, 9th Edition, ASM Press.

12. 관련 제품

장비 및 부속품

제품	크기	Cat.#
Maxwell® CSC Instrument*	각 1개	AS6000
Maxwell® RSC/CSC Deck Tray	각 1개	SP6019
Maxwell® CSC 48 Instrument*	각 1개	AS8000
Maxwell® RSC/CSC 48 Front Deck Tray	각 1개	AS8401
Maxwell® RSC/CSC 48 Back Deck Tray	각 1개	AS8402
Microtube, 1.5ml	1,000/팩	V1231

*체외 진단용. 본 제품은 특정 국가에서만 사용할 수 있습니다.

Maxwell® CSC Reagent Kits

사용 가능한 Maxwell® CSC Purification Kit의 목록은 **www.promega.com** 에서 확인하십시오.

13. 변경 사항 요약

다음 변경 사항이 본 문서의 3/21 개정에 적용되었습니다.

1. Maxwell® CSC 48 Instrument에 대한 사용 지침을 포함했습니다.
2. 섹션 7이 업데이트되었습니다.
3. 섹션 12이 업데이트되었습니다.
4. 특허 문구가 업데이트되었습니다.
5. 커버 페이지가 업데이트되었습니다.

[a]U.S. 특허 제7,329,488호 및 한국 특허 제100483684호.

© 2014–2021 Promega Corporation. All Rights Reserved.

Maxwell은 Promega Corporation의 등록 상표입니다.

LpH는 Steris Corporation의 등록 상표입니다.

제품은 특허 출원 중이거나 특허를 받았을 수 있으며 특정한 제한사항이 있을 수 있습니다. 자세한 정보는 당사의 웹 사이트를 참조하십시오.

모든 가격과 사양은 사전 예고 없이 변경될 수 있습니다.

제품의 청구사항이 변경될 수 있습니다. Promega 제품의 최신 정보는 Promega Technical Services로 문의하시거나 Promega 온라인 카탈로그를 확인하시기 바랍니다.