

기술 설명서

# Maxwell<sup>®</sup> CSC RNA FFPE Kit

제품 사용 지침서  
**AS1360**

**주의:** 카트리지를 주의하여 취급하십시오. 씸 부분의 모서리가 날카로울 수 있습니다.

# Maxwell® CSC RNA FFPE Kit

모든 기술 관련 문헌은 [www.promega.com/protocols/](http://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](mailto:techserv@promega.com))로 이메일을 보내 주십시오.

1. 설명 .....	1
2. 제품 구성품, 보관 조건 및 기호 키 .....	2
3. 제품 사용 목적 .....	4
4. 제품 사용 시 제한 사항 .....	4
5. 시작하기 전 준비 사항 .....	5
5.A. FFPE 샘플의 준비 .....	5
5.B. Maxwell® CSC RNA FFPE 카트리지 준비 .....	6
6. 기기 실행 .....	8
7. 정제 후 .....	10
8. 문제해결 .....	10
9. 리보뉴클레아제가 없는 환경 만들기 .....	12
10. 참고 자료 .....	12
11. 관련 제품 .....	13
12. 변경 사항 요약 .....	13

Maxwell® CSC RNA FFPE 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 FFPE Kit<sup>(a)</sup>는 인간 FFPE(포르말린 고정, 파라핀 포매) 유방, 폐 또는 결장 조직 샘플에서 유래하는 RNA를 효율적이며 자동화된 방법으로 간편하게 정제하는 표 1에 명시된 Maxwell® CSC 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 45분 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

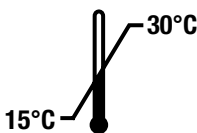
장비	Cat.#	기술 설명서
Maxwell® CSC	AS6000	TM457
Maxwell® CSC 48	AS8000	TM623

Maxwell® CSC RNA FFPE Kit는 RNA의 샘플 포획, 세척 및 정제를 최적화하는 이동성 고체상을 제공하는 상자성 입자를 사용하여 핵산을 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 포획 접근 방식은 팁이 막히거나 시약의 일부만 전달하는 등 액체 처리 시스템과 연관된 일반적인 문제를 방지할 수 있습니다. 이런 문제들은 다른 일반적으로 사용되는 자동화 시스템에서 부적절한 정제 처리를 야기합니다.

## 2. 제품 구성품, 보관 조건 및 기호 키

제품	크기	CAT.#
Maxwell® CSC RNA FFPE Kit	48회 전처리	AS1360


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





#### 포함 품목:

- 25ml Mineral Oil
- 20ml Lysis 버퍼
- 2 × 1ml Proteinase K
- 100µl Blue Dye
- 2 × 1ml MnCl<sub>2</sub>, 0.09M
- 1ml DNase Buffer
- 바이알 3개 DNase I(lyophilized)
- 48 Maxwell® FFPE 카트리지
- 50 CSC/RSC 플런저
- 50 용출 튜브(0.5ml)
- 25ml Nuclease-Free Water

**보관 조건:** Maxwell® CSC RNA FFPE Kit는 상온(15~30°C)에서 보관합니다. 재수화된 DNase I은 -30~-10°C에서 보관하십시오. 10회 이상 동결-해동하지 마십시오.



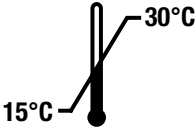











 **안전 정보:** 카트리지는 에탄올과 이소프로판올을 함유하고 있습니다. 이 물질들은 가연성이며 유해하고 자극을 유발하는 물질로 간주되어야 합니다.

 Maxwell® CSC RNA FFPE Kit 는 잠재적인 감염 물질과 함께 사용하도록 설계되었습니다. 감염 물질을 취급하는 경우 적절한 개인 보호 장비(예: 장갑 및 고글)를 착용하십시오. 이 시스템에 사용되는 모든 감염 물질을 취급하고 폐기하기 위해 해당 연구소의 지침을 준수하십시오.

 **주의:** 카트리지를 주의하여 취급하십시오. 썰 부분의 모서리가 날카로울 수 있습니다.

**추가 정보:** Maxwell® CSC RNA FFPE Kit의 구성품은 키트와 함께 작동될 수 있도록 적합성 및 품질 관리 검사를 받았습니다. 다른 키트 로트 간에 키트 구성품을 섞어서 사용하는 것은 좋지 않습니다. 키트에 제공된 구성품만 사용하십시오.

## 기호 키

기호	설명	기호	설명
	체외 진단용 의료 기기		공인된 대리점
	15~30°C에서 보관.		제조사
	주의		자극성
	발암 물질		“n”회 테스트에 충분한 분량 포함
	Conformité Européenne		경고. 생물 재해.
	경고. 핀치 포인트 위험.		카탈로그 번호
	로트 번호		재사용 금지

### 3. 제품 사용 목적

Maxwell® CSC RNA FFPE Kit는 인간의 유방, 폐 그리고 결장 FFPE(포르말린 고정, 파라핀 포매)에서 유래하는 RNA의 자동화된 분리를 수행하기 위한 체외 진단(IVD) 의료 장치로, Maxwell® CSC Instrument 및 Maxwell® CSC RNA FFPE 정제법과 함께 사용할 수 있습니다. 정제된 RNA는 증폭 기반 체외 진단 분석에 사용하기에 적합합니다.

Maxwell® CSC RNA FFPE Kit는 15~30°C 사이 온도에서 사용하게 되어 있습니다. 이 온도 범위를 벗어나는 사용은 부적절한 결과를 야기할 수 있습니다.

10% 중성 버퍼 포르말린을 사용하여 준비된 FFPE 샘플을 Maxwell® CSC RNA FFPE Kit와 함께 사용할 수 있습니다.

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

Maxwell® CSC RNA FFPE 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 FFPE Kit는 인간의 유방, 폐 또는 결장에서 채취한 FFPE 조직 샘플만 사용할 수 있습니다. 신선 또는 냉동 조직 샘플 등 비-FFPE 조직 샘플 또는 인간의 유방, 폐 또는 결장 외의 조직에서 채취된 FFPE 조직 샘플에 사용할 수 없습니다. Maxwell® CSC RNA FFPE Kit는 비-인간 샘플을 포함하여 다른 유형의 샘플 또는 DNA 정제용으로 사용할 수 없습니다.

Maxwell® CSC RNA FFPE Kit는 10% 중성 버퍼 포르말린 이외의 고정액으로 준비된 조직 샘플에 사용할 수 없습니다.

Maxwell® CSC RNA FFPE Kit의 성능은 크기가 0.1~2.0mm<sup>3</sup> 범위의 FFPE 조직 샘플에서 RNA를 분리하여 평가되었습니다. 이 범위 외의 샘플에 사용할 수 없습니다.

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

## 5. 시작하기 전 준비 사항

### 사용자가 준비해야 하는 재료

- 마이크로 원심분리기
- 샘플을 전처리하고 미리 채워진 시약 카트리지로 옮기기 위한 피펫터 및 피펫 팁
- 샘플 배양용 1.5~2.0ml 튜브(예: 마이크로튜브, 1.5ml, Cat.# V1231)
- 56°C와 80°C로 설정된 열 블록
- FFPE 샘플의 총 조직 부피는 0.1~2.0mm<sup>3</sup>이며, 절편의 두께는 5μm를 초과하면 안됩니다(참조: 샘플은 상온에서 보관되어야 합니다. [15~30°C])
- 면도날(참고: 슬라이드에서 샘플을 긁어내기 위해 면도날을 사용할 때 주의해야 합니다.)



필요한 경우, 275μl의 Nuclease-Free Water로 DNase I의 동결 건조 바이알을 재구성합니다. 캡의 밑면에서 DNase I을 씻어내기 위해 바이알을 뒤집고 부드럽게 돌려서 혼합합니다. 볼텍싱하지 않습니다.

### 5.A. FFPE 샘플의 준비

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 9. 리보뉴클레아제가 없는 환경 만들기'를 참조하십시오.

### 절편 샘플의 전처리

1. 절편을 1.5ml 마이크로 원심분리기 튜브에 담습니다. 슬라이드에 장착된 조직 절편을 사용한다면, 청결한 면도날을 사용하여 슬라이드에서 절편을 긁어 내십시오.
2. 샘플 튜브에 미네랄 오일 300μl를 첨가합니다. 10초 동안 볼텍싱합니다.
3. 샘플을 80°C에서 2분 동안 가열합니다. 마스터 믹스를 준비하는 동안 샘플을 실온에 놓아 둡니다.
4. 아래에서 보는 바와 같이 Lysis 버퍼, Proteinase K 그리고 청색 염료로 마스터 믹스를 준비합니다.

시약	용량/반응수	반응수 (실행수 + 1)	합계
Lysis 버퍼	224μl	n + 1	224μl × (n + 1)
Proteinase K	25μl	n + 1	25μl × (n + 1)
청색 염료	1μl	n + 1	1μl × (n + 1)

5. 각 샘플 튜브에 250μl의 마스터 믹스를 첨가하고, 5초 동안 볼텍싱합니다.
6. 층 분리를 위해 샘플 튜브를 20초 동안 10,000 × g로 원심분리합니다. 펠릿이 수층(하층, 청색층)에 있는 경우, 펠릿을 분산하기 위해 부드럽게 혼합합니다. 튜브에 두 가지 상을 남겨 둡니다.
7. 샘플 튜브를 56°C 열 블록으로 옮겨서, 15분 동안 배양합니다.
8. 샘플 튜브를 80°C 열 블록으로 옮겨서, 1시간 동안 배양합니다.

### 5.A. FFPE 샘플 준비(계속)

9. 샘플 튜브를 얼 블록에서 제거하고, 샘플을 15분 동안 상온에서 냉각시킵니다. 샘플이 냉각되는 동안, 10단계에서 설명한 대로 DNase 카테일을 준비합니다.
10. 아래 보이는 순서에 따라  $MnCl_2$ , DNase 버퍼 및 DNase I의 카테일을 준비합니다.

시약 <sup>1</sup>	용량/반응수	반응수 (실행수 + 1)	합계
$MnCl_2$ , 0.09M	26 $\mu$ l	n + 1	26 $\mu$ l $\times$ (n + 1)
DNase 버퍼 <sup>2</sup>	14 $\mu$ l	n + 1	14 $\mu$ l $\times$ (n + 1)
DNase I <sup>3</sup>	10 $\mu$ l	n + 1	10 $\mu$ l $\times$ (n + 1)

<sup>1</sup>DNase 카테일 시약을 샘플 튜브에 개별적으로 첨가하는 경우, 상기의 순서를 준수하며 첨가하십시오. 다음 시약을 첨가하기 전에 피펫팅을 철저히 하여 각 시약을 첨가하십시오.

<sup>2</sup>15~30°C에서 DNase 버퍼를 보관하십시오. 저온에서 보관하면 침전물이 발생할 수 있습니다. 버퍼에 침전물이 생길 경우, 56°C에서 2분 동안 가열하여 침전물을 용해시킨 다음 잠깐 동안 볼텍싱 하여 혼합합니다.

<sup>3</sup>-30~-10°C에서 나머지 재구성된 DNase I을 보관하십시오.

11. 각 샘플 튜브의 청색, 수성상에 50 $\mu$ l의 DNase 카테일을 추가합니다. 피펫팅을 10회 하여 혼합합니다.
12. 샘플 튜브를 상온(15~30°C)에서 15분 동안 배양합니다. 배양하는 동안 섹션 5.B에 기술된 바와 같이 카트리지를 준비합니다.
13. 샘플 튜브를 마이크로 원심분리기에서 5분 동안 최고 속도로 원심분리합니다.
14. 청색, 수성상을 Maxwell® CSC RNA FFPE 카트리지의 웰 #1로 즉시 옮깁니다.

### 5.B. Maxwell® CSC RNA FFPE 카트리지 준비

1. Maxwell® FFPE 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 실티 카트리지 상단에서 제거되도록 실티를 조심하여 벗겨내십시오. 실티 테이프와 잔여 접착제가 카트리지에서 완전히 제거되었는지 확인하십시오.



**주의:** 카트리지를 주의하여 다루십시오. 실티의 모서리가 날카로울 수 있습니다.

2. 플런저 하나를 각 카트리지의 웰 #8에 위치시키십시오.
3. 데크 트레이에 있는 각 카트리지를 위해 용출 튜브 위치로 빈 용출 튜브를 배치하십시오.

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

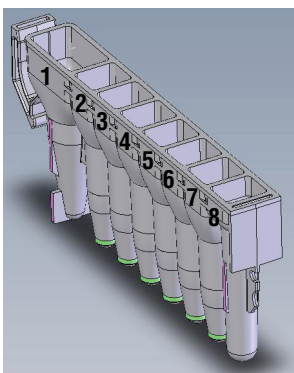
4. 각 용출 튜브의 바닥으로 Nuclease-Free Water 50 $\mu$ l를 첨가하십시오. 용출 튜브는 RNA 정제 과정 동안 개방되어 있어야 합니다.

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

#### Maxwell® CSC RNA FFPE 카트리지 준비 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. 전 처리된 샘플
8. CSC/RSC 플런저

그림 1. Maxwell® CSC 카트리지. 전처리된 FFPE 샘플은 웰 #1에 첨가되고, 플런저는 웰 #8에 첨가됩니다.



그림 2. 데크 트레이의 설치 및 구성. Nuclease-Free Water을 표시된 바와 같이 용출 튜브에 첨가합니다.



## 6. 기기 실행

Maxwell® CSC Instrument에 대한 Maxwell® CSC RNA FFPE 실행 방법은 Promega 웹사이트에서 다운로드할 수 있습니다: [www.promega.com/resources/tools/maxwellcscmethod](http://www.promega.com/resources/tools/maxwellcscmethod). Maxwell® CSC 48 Instrument에 대한 Maxwell® CSC RNA FFPE 방법은 Promega 웹사이트에서 다운로드할 수 있습니다: [www.promega.com/resources/tools/maxwellcsc48method](http://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 설명서 #TM457* 또는 *Maxwell® CSC 48 Instrument 작동 설명서 #TM623*의 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 재위치 확인을 통해 장비가 가동됩니다.
2. ‘홈’ 화면에서 **시작**을 선택하십시오.
3. Maxwell® CSC RNA FFPE 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 FFPE 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 들어가지 않고, 용출 튜브가 존재하지 않거나 열려 있음)는 소프트웨어가 '카트리지 설정' 화면으로 되돌아가게 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. 실행 방법 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. UV 살균 프로토콜을 실행하기 전에 정제된 핵산의 손상을 방지하기 위해 기기에서 샘플을 확실히 제거하십시오. RNA 샘플은 -30~-10°C에서 하룻밤 보관하거나 -60°C 이하에서 장기 보관할 수 있습니다.

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.



## 7. 정제 후

후속 분석에 사용하기 전에 정제된 RNA 샘플의 수율과 순도가 후속 진단 분석의 입력 요건을 충족하는지 확인하십시오. 키트 성능은 증폭 가능한 RNA의 정제를 기반으로 평가됩니다. 흡광도 또는 형광 염료 결합 등 다른 정량법은 증폭도와 연관성이 없을 수 있습니다(1). FFPE의 흡광도 측정값은 과대평가된 수율일 수 있습니다. 수율을 결정하기 위해 보다 특정한 방법을 사용하는 것이 좋습니다(1).

## 8. 문제해결

본 문서에서 해결되지 않는 문제가 있는 경우, 현지 Promega 지사나 대리점으로 문의하십시오. 다음 주소에서 연락처 정보를 확인할 수 있습니다. [www.promega.com](http://www.promega.com). 이메일: [techserv@promega.com](mailto:techserv@promega.com)

증상	가능한 원인과 설명
용출액에 있는 RNA의 농도가 예상치보다 낮습니다 (일반적인 FFPE 절편은 조직 크기, 세포 수, 포르말린 고정 조건 및 취급상태에 따라 증폭 가능한 RNA를 생성해야 합니다.)	키트 성능은 0.1mm <sup>3</sup> 에서 2.0mm <sup>3</sup> 사이의 범위를 갖는 FFPE 조직 샘플에서 RNA를 분리하여 평가되었습니다. 이 범위 외의 샘플에서 사용하기 위한 것이 아닙니다. 이 범위에 해당하는 절편을 사용하십시오.
	본 키트는 인간의 유방, 폐 또는 결장에서 채취된 FFPE 조직 샘플에 사용하기 위해 만들어졌습니다. 본 키트는 신선 또는 냉동 조직 샘플 등 비 FFPE 조직 샘플과, 또는 인간의 유방, 폐 및 결장 이외의 조직에서 채취된 FFPE 조직 샘플에 사용하도록 만들어지지 않았습니다. 배양 시간과 온도는 인간의 유방, 폐 및 결장에 대해서만 시험 되었습니다. 인간의 유방, 폐 또는 결장에 대해서만 사용하십시오.
	본 키트는 10% 중성 버퍼 포르말린 이외의 고정제로 준비된 조직 샘플에 사용하도록 만들어지지 않았습니다. 다른 고정제가 사용되었는지 확인하십시오.
	RNase가 샘플 처리 또는 정량 과정에서 도입될 수 있습니다. 리보클레아제가 없는 환경을 만드는 정보에 대해 섹션 9를 참조하십시오.
	사용되는 조직은 염색된 슬라이드 또는 절편에서 얻었습니다. 염색된 슬라이드 또는 절편에 대해 어떠한 클레임도 하지 않습니다. 염색되지 않은 슬라이드 또는 절편으로 정제과정을 반복하십시오.
	키트의 성능은 증폭 가능한 RNA의 정제에 기초하여 평가되었습니다. 흡광도 또는 형광 염료 결합 등 다른 정량법은 증폭도와 연관성이 없을 수 있습니다. 수율을 평가하기 위해 증폭도 정량법을 사용하십시오.

## 증상

## 가능한 원인과 설명

예상 품질보다 낮습니다  
(용출액은 심하게 분절된 RNA 또는 후속 분석의 억제제가 포함되어 있습니다.)

포르말린 고정 및 후속 가교 반전은 RNA를 분절시킵니다. RNA가 추출/정제 과정 전에 분절화된 경우, 분절된 RNA를 이 키트로 정제합니다. 선택한 절편 또는 처리 과정에 문제가 있는지 평가하기 위해 인접 절편으로 재실험합니다.

일부 증폭 분석은 억제제의 존재에 특히 민감합니다. 후속 분석 제어과정에서 용출액에 증폭 억제제가 있는지 확인해야 합니다. 후속 분석에서 이 제품의 호환성을 확인하는 것은 사용자의 책임입니다.

용출액에 DNA가 존재합니다  
(용출액이 후속 분석을 간섭할 수 있는 DNA로 오염되었습니다.)

0.1mm<sup>3</sup>~2.0mm<sup>3</sup> 크기를 가진 FFPE 조직 샘플을 사용하는 경우 샘플에 첨가된 DNase 칵테일이 DNase 활성을 초과합니다. 이 범위를 벗어난 샘플에 사용하도록 만들어지지 않았으며 최적일 수 없습니다. 이 범위에 해당하는 절편을 사용하십시오.

전처리 과정 동안 DNase 칵테일을 샘플에 불충분하게 혼합하면 DNA의 불완전한 분해를 야기할 수 있습니다. DNase 칵테일을 샘플에 완전히 혼합하십시오.

DNase 칵테일의 구성물이 샘플에 별도로 첨가될 경우, 섹션 5.A의 10단계에 명시된 순서에 따라 첨가하십시오. 또한, 첨가 시 각 구성물을 완전히 혼합하십시오. 다른 순서로 구성물을 첨가하거나 불완전하게 혼합하면 DNase를 불활성화시킬 수 있습니다.

## 9. 리보뉴클레아제가 없는 환경 만들기

리보뉴클레아제는 불활성이 매우 중요합니다. 분리하는 동안 그리고 이후, RNA 샘플에 RNase가 활성화되지 않도록 주의하십시오. 출발 물질의 양이 한정된 경우에만, 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 때 무균 기술을 사용하십시오. 항상 장갑을 착용하십시오. 리보뉴클레아제와 접촉할 때마다 항상 장갑을 교체하십시오.
2. RNA를 취급하기 위해 가능하면 멸균된, 일회용 플라스틱 제품을 항상 사용하십시오. 이러한 재료들은 일반적으로 RNase가 없으며 RNase를 불활성화하기 위해 전처리를 할 필요가 없습니다.
3. 사용하기 전에 비멸균 유리 제품 및 플라스틱 제품을 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.
4. 본 시스템과 함께 제공되지 않는 처리 용액은 0.1% 흙 후드에서 디에틸 피로카보네이트(DEPC)를 첨가합니다. 후드에서 교반하면서 실온에서 하룻밤 배양합니다. DEPC의 흔적을 제거하기 위해 30분 동안 가압멸균합니다.



**주의:** DEPC는 발암성이 의심되므로 화학 흙 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.

## 10. 참고 자료

1. Bonin, S. *et al.* (2010) Multicentre validation study of nucleic acids extraction from FFPE tissues. *Virchows Arch.* 457, 309–17.

## 11. 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

\*제외 진단용. 본 제품은 특정 국가에서만 사용할 수 있습니다.

### Maxwell® CSC Reagent Kits

사용 가능한 Maxwell® CSC Purification Kit의 목록은 [www.promega.com](http://www.promega.com) 에서 확인하십시오.

## 12. 변경 사항 요약

다음 변경 사항이 본 문서의 3/21 개정에 적용되었습니다.

1. Maxwell® CSC 48 Instrument에 대한 사용 지침을 포함했습니다.
2. 섹션 6이 업데이트되었습니다.
3. 섹션 9~12의 번호를 다시 매겼습니다.
4. 섹션 11이 업데이트되었습니다.
5. 법적 고지가 추가되었습니다.
6. 커버 페이지가 업데이트되었습니다.

<sup>(a)</sup>U.S. 특허 제7,329,488호 및 한국 특허 제10-0483684호.

© 2013–2021 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.