

Affymetrix® Reagenskit voor genprofilering

RNA-controlekit



Beoogd gebruik

Voor gebruik bij in vitro diagnostiek

De genprofilingsreagentia van Affymetrix® zijn bestemd voor het prepareren van gelabeld complementair doel-RNA uit gezuiverd totaal RNA uit verse of ingevroren klinische weefselspecimens voor hybridisatie met GeneChip®-microarrays van Affymetrix en de meting van fluorescentiesignalen van gelabeld doel-RNA met behulp van het GeneChip®-microarray instrumentsysteem van Affymetrix.

Bestemd voor gebruik met afzonderlijk door de FDA goedgekeurde GeneChip-microarrayassays van Affymetrix die met genprofilingsassays van Affymetrix gebruikt dienen te worden.

Overzicht

De RNA-controlekit is specifiek bestemd voor het leveren van exogene positieve controles voor het monitoren van het gehele synthese- en labelingproces van het eukaryotische doel-RNA. Elke eukaryotische probe array bevat probe-sets voor diverse *B. subtilis*-genen die afwezig zijn in de geanalyseerde monsters (*lys*, *phe* en *dap*). De RNA-controlekit bevat *in vitro* gesynthetiseerde, gepolyadenyleerde transcripten voor deze *B. subtilis*-genen die vooraf in verspreide concentraties gemengd zijn om probe array-gebruikers in staat te stellen het algehele succes van de assay te evalueren. De geconcentreerde poly-A-controle kan met de verdunningsbuffer (als deel van de kit meegeleverd) worden verdund en rechtstreeks in de totaal-RNA-monsters gespiket om de hieronder samengevatte eindconcentraties ('copy number ratio' genoemd) te verkrijgen:

Poly-A-controle	Eindconcentratie
<i>lys</i>	1:100.000
<i>phe</i>	1:50.000
<i>dap</i>	1:6.667

De controles worden vervolgens geamplificeerd en samen met de monsters gelabeld. Door de hybridisatie-intensiteiten van deze controles op arrays te onderzoeken kunnen gebruikers het amplificatie- en labelingproces onafhankelijk van de kwaliteit van de totaal-RNA-monsters bij aanvang monitoren. Een uitgebreide procedure voor het gebruik van deze kit is beschreven in de *Affymetrix Gene Profiling Reagents User Guide* (gebruikershandleiding voor genprofilingsreagentia van Affymetrix).

Onderdelen van de kit

Het analysecertificaat is verkrijgbaar op de website van Affymetrix.

Onderdeel	Ond.-nr.	Volume	Bewaren bij
RNA-controlekit ond.-nr. 901285			
Poly-A-controle (Poly-A Control)	901284	16 µl	-15 tot -30 °C
Verdunningsbuffer (Dilution Buffer)	901283	3,8 ml	-15 tot -30 °C

Andere, niet met deze kit meegeleverde genprofilingsreagentia

Onderdeel	Ond.-nr.
Transcriptsynthese- en labelingkit A, B	901286
Transcriptdetectiekit A, B, C	901299

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

1. Voor gebruik bij in vitro diagnostiek.
2. Vermijd microbiële verontreiniging; dit kan tot foutieve resultaten leiden.
3. Alle biologische specimens en materialen waarmee deze in aanraking komen, moeten worden gehanteerd alsof ze in staat zijn infecties over te brengen en moeten worden afgevoerd met inachtneming van de juiste voorzorgen conform de Europese, nationale en plaatselijke voorschriften. Dit betekent dat de normen van de OSHA Bloodborne Pathogens Standard (29 CFR 1910.1030) voor bloed en andere mogelijk infectieuze materialen waarop deze wet van kracht is, moeten worden nageleefd. Pipetteer nooit met de mond. Zorg dat het specimen niet in aanraking komt met de huid en slijmvliezen.
4. De gebruikelijke voorzichtigheid is geboden tijdens het verkrijgen, hanteren en afvoeren van mogelijk carcinogene reagentia.
5. Tijdens alle stappen van deze procedure is voorzichtigheid geboden om kruisverontreiniging van monsters te voorkomen, omdat dit foutieve resultaten tot gevolg kan hebben.
6. Gebruik wanneer mogelijk poedervrije handschoenen om het introduceren van poederdeeltjes in het monster of in de materialen van de kit tot een minimum te beperken.
7. Wanneer dit product open is, is het 30 dagen lang stabiel mits het bij de aanbevolen opslagtemperatuur wordt bewaard.
8. Het is aangetoond dat de werking van de kit gedurende maximaal acht vries/dooi-cycli niet wordt beïnvloed.

Veiligheidsinformatie

Veiligheidsinformatiebladen (MSDS, Material Safety Data Sheet) zijn verkrijgbaar op www.affymetrix.com. Als een product een kit is of met meer dan één materiaal wordt geleverd, dient u het veiligheidsinformatieblad voor elk onderdeel te raadplegen voor informatie over gevaren.

Indicaties van instabiliteit of deterioratie

Inspecteer de verpakkingen bij ontvangst. Als het verzegelde label bij de perforaties is geopend, mag de inhoud van de verpakking niet worden gebruikt. Neem voor klantenservice of technische ondersteuning contact op met Affymetrix.

Workflowprocedures

De poly-A-controle en de verdunningsbuffer worden met de kit geleverd voor het prepareren van de juiste seriële verdunningen aan de hand van de aanvangshoeveelheid totaal RNA (tabel 1.0). Er is een leidraad voor gebruik van 100, 200, 500 of 1.000 µg totaal RNA als startmateriaal. Voor andere tussenliggende aanvangshoeveelheden van de monsters zijn berekeningen nodig om de juiste verdunningen te verrichten om verhoudingsgewijze dezelfde eindconcentratie van de gespikete controles in de monsters te verkrijgen.

Uitgebreide stappen en instructies zijn opgenomen in de *Affymetrix Gene Profiling Reagents User Guide* (gebruikershandleiding voor genprofilingsreagentia van Affymetrix), die te vinden is op www.affymetrix.com.

Tabel 1.0 Seriële verdunningen van de poly-A-controle

Aanvangshoeveelheid totaal RNA	Seriële verdunningen				Volume toe te voegen aan totaal RNA
	Eerste	Tweede	Derde	Vierde	
100 µg	1:20	1:50	1:50	1:5	1 µl
200 µg	1:20	1:50	1:50	1:2,5	1 µl
500 µg	1:20	1:50	1:50		1 µl
1.000 µg	1:20	1:50	1:25		1 µl

Voorbeeld: ga als volgt te werk om de poly-A-verdunningen voor 200 µg totaal RNA te prepareren:

1. Label vier non-stick RNase-vrije microcentrifugebuisjes als eerste, tweede, derde en vierde verdunning.
2. Nadat de verdunningsbuffer op kamertemperatuur is ontdooid, pipetteert u 38 µl verdunningsbuffer in het eerste verdunningsbuisje, 98 µl verdunningsbuffer in het tweede en derde verdunningsbuisje en 6 µl verdunningsbuffer in het vierde verdunningsbuisje. Plaats de verdunningsbuffer weer in de vriezer. Bewaar de buisjes bij kamertemperatuur.
3. Ontdooi de poly-A-controle op kamertemperatuur. Nadat de poly-A-controle ontdooid is, mengt u hem door tegen het buisje te tikken en het omlaag te centrifugeren om de vloeistof onder in het buisje op te vangen. Ga onmiddellijk verder met stap 4.

4. Voeg 2 µl poly-A-controleoplossing toe aan de 38 µl verdunningsbuffer in het als eerste verdunning gelabelde buisje (1:20). Zet de poly-A-controle terug in de vriezer.
5. Meng de inhoud goed door tegen het buisje te tikken en omlaag te centrifugeren om de vloeistof onder in het buisje op te vangen.
6. Voeg 2 µl van de eerste verdunning toe aan 98 µl verdunningsbuffer in het als tweede verdunning gelabelde buisje (1:50).
7. Meng de inhoud goed door tegen het buisje te tikken en omlaag te centrifugeren om de vloeistof onder in het buisje op te vangen.
8. Voeg 2 µl van de tweede verdunning toe aan 98 µl verdunningsbuffer in het als derde verdunning gelabelde buisje (1:50).
9. Meng de inhoud goed door tegen het buisje te tikken en omlaag te centrifugeren om de vloeistof onder in het buisje op te vangen.
10. Voeg 4 µl van de derde verdunning toe aan 6 µl verdunningsbuffer in het als vierde verdunning gelabelde buisje (1:2,5).
11. Meng de inhoud goed door tegen het buisje te tikken en omlaag te centrifugeren om de vloeistof onder in het buisje op te vangen.
12. Gebruik de vierde verdunning om de vervolgens beschreven oplossing in 'Preparatie van de eerstestrenge-cDNA-synthesereactie' te prepareren.

Uitgebreide stapsgewijze instructies voor de bovenstaande procedures zijn opgenomen in de *Affymetrix Gene Profiling Reagents User Guide* (gebruikershandleiding voor genprofileringsreagentia van Affymetrix), die te vinden is op www.affymetrix.com.

Beperkingen van de procedure

De juiste bewaring en hantering van reagentia en monsters zijn van wezenlijk belang voor de prestatie daarvan. Bewaar de RNA-controlekit niet in een vorstvrije vriezer. Alle laboratoriumapparatuur die gebruikt wordt om het doel-RNA tijdens deze procedure te prepareren, moet worden gekalibreerd en onderhouden om te zorgen dat deze nauwkeurig is. Een incorrecte meting van reagentia kan van invloed zijn op de resultaten van de procedure.

Beperkte licentie

Onderhevig aan de voorwaarden van Affymetrix m.b.t. tot uw gebruik van producten van Affymetrix kent Affymetrix u een niet-exclusieve, niet-overdraagbare, niet verder te licentiëren licentie toe voor gebruik van dit product van Affymetrix, uitsluitend overeenkomstig de handleiding en de door Affymetrix verstrekte schriftelijke instructies. U erkent en gaat akkoord dat, uitgezonderd zoals in de voorwaarden van Affymetrix uitdrukkelijk is uiteengezet, met dit product van Affymetrix geen recht op of licentie voor enig octrooi of andere intellectuele eigendom in eigenschap van of in licentie gegeven door Affymetrix, wordt overgedragen of geïmpliceerd. In het bijzonder wordt er geen recht of licentie overgedragen of geïmpliceerd voor gebruik van dit product van Affymetrix in combinatie met een product dat niet door Affymetrix voor dergelijk gebruik wordt geleverd of gelicentieerd of specifiek wordt aanbevolen.

Handelsmerken

Affymetrix®, Axiom™, Command Console®, DMET™, GeneAtlas™, GeneChip®, GeneChip-compatible™, GeneTitan®, Genotyping Console™, myDesign™, NetAffx®, OncoScan™, Powered by Affymetrix™, Procarta®, en QuantiGene® zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Affymetrix, Inc.

Asuragen® is een gedeponeerd handelsmerk van Asuragen, Inc.

Alle andere handelsmerken zijn eigendom van hun respectieve eigenaars.












Copyright

© 2009-2011 Affymetrix, Inc. Alle rechten voorbehouden.

Tabel met symbolen

De onderstaande tabel toont de grafische symbolen die op het productetiket, de bijsluiters en de gebruikershandleiding van Affymetrix zijn gebruikt.

Tabel 2.0 Grafische symbolen voor productinformatie

Symbool / Etiket	Tekst
	Onderdeel-/catalogusnummer
	Lotnummer
	Uiterste gebruiksdatum JJJJ-MM De uiterste gebruiksdatum van de kit is de laatste dag van de maand.
	Temperatuurlimiet
	Inhoud voldoende voor "n" testen
Xi	Irriterend
	Gevaaren
	Gebruiksaanwijzing raadplegen
	Fabrikant
	Medisch hulpmiddel voor <i>in vitro</i> diagnostiek
	Europese conformiteit
	Gemachtigde vertegenwoordiger in de Europese Unie

Deze bijsluiter is in vertaling verkrijgbaar op de website van Affymetrix.

Contact Information

 Affymetrix, Inc.,
3420 Central Expressway,
Santa Clara, CA 95051 VS

Vervaardigd door Asuragen® voor Affymetrix, Inc.

 Emergo Europe
Molenstraat 15
2513 BH, Den Haag
Nederland
Tel: 070.345.8570
Fax: 070.346.7299

Neem voor technische ondersteuning contact op met Affymetrix op het betreffende onderstaande e-mailadres of telefoonnummer.

Affymetrix, Inc.

3420 Central Expressway
Santa Clara, CA 95051 VS
E-mail: support@affymetrix.com
Tel: 1-888-362-2447 (1-888-DNA-CHIP)
Fax: 1-408-731-5441

Affymetrix UK Ltd

Voyager, Mercury Park,
Wycombe Lane, Wooburn Green,
High Wycombe HP10 0HH
Verenigd Koninkrijk
E-mail: supporteurope@affymetrix.com
Tel: +44 (0) 1628 552550
Fax: +44 (0) 1628 552585
www.affymetrix.com