

## Affymetrix® Gene Profiling Reagent Kit

### Kit di controllo RNA



#### Uso previsto

Solo per uso diagnostico in vitro

I reagenti Gene Profiling Affymetrix sono utilizzati per la preparazione di un target di RNA complementare marcato a partire da RNA totale purificato da campioni clinici tissutali freschi o congelati per l'ibridazione di microarray GeneChip® Affymetrix e la misurazione dei segnali fluorescenti di RNA target marcato, utilizzando il sistema di strumentazione per microarray GeneChip® Affymetrix.

Il kit è destinato ad essere usato con i test per microarray GeneChip Affymetrix, approvati separatamente dall'ente statunitense FDA, specificanti l'uso dei reagenti Gene Profiling Affymetrix.

#### Sommario

Il kit di controllo RNA è studiato appositamente per fornire controlli esogeni positivi, atti a monitorare l'intero processo di sintesi e marcatura del target eucariotico. Ciascun array di sonde eucariotiche contiene set di sonde per diversi geni di *B. subtilis* assenti nei campioni analizzati (*lys*, *phe* e *dap*). Il kit di controllo RNA contiene trascritti poliadenilati e sintetizzati *in vitro* per tali geni, a loro volta premiscelati in concentrazioni intervallate (staggered) per permettere agli utenti di array di sonde di valutare il successo complessivo del test. Il controllo Poly-A concentrato può essere diluito con il tampone di diluizione (compreso nel kit) e immesso direttamente nei campioni di RNA totale per ottenere le concentrazioni finali (esprese come rapporto del numero di copie) riportate sotto:

Controllo Poly-A	Concentrazione finale
<i>lys</i>	1:100 000
<i>phe</i>	1:50 000
<i>dap</i>	1:6 667

Successivamente, i controlli sono amplificati e marcati insieme ai campioni. L'esame delle intensità di ibridazione di tali controlli sugli array consente di monitorare il processo di amplificazione e di marcatura indipendentemente dalla qualità dei campioni iniziali di RNA totale. La procedura dettagliata d'uso di tale kit è descritta nel *manuale d'istruzione dei reagenti Gene Profiling Affymetrix*.

#### Componenti del kit

Il certificato di analisi è disponibile sul sito Web di Affymetrix.

Componente	N° di cat.	Volume	Conservazione
<b>Kit di controllo RNA, n° di cat. 901285</b>			
Controllo Poly – A (Poly-A Control)	901284	16 µL	da -15°C a -30°C
Tampone di diluizione (Dilution Buffer)	901283	3,8 mL	da -15°C a -30°C

#### Altri reagenti Gene Profiling non inclusi in questo kit

Componente	N° di cat.
Kit di sintesi e di marcatura dei trascritti A, B	901286
Kit di rilevazione dei trascritti A, B, C	901299

#### Avvertenze e precauzioni

1. Solo per uso diagnostico in vitro.
2. Evitare la contaminazione microbica che potrebbe causare risultati erranei.
3. Tutti i campioni biologici ed i materiali con cui vengono a contatto devono essere maneggiati come se fossero in grado di trasmettere infezioni e vanno smaltiti in conformità alla normativa vigente. Negli Stati Uniti ciò prevede l'ottemperanza al regolamento OSHA Bloodborne Pathogens Standard (29 CFR 1910.1030) relativo al sangue ed ad altri materiali potenzialmente infettivi. Non pipettare mai con la bocca. Evitare il contatto dei campioni con la pelle e le mucose.
4. Adottare precauzioni standard quando si ottengono, maneggiano e smaltiscono reagenti potenzialmente cancerogeni.
5. Evitare accuratamente la contaminazione crociata di campioni durante tutti i passaggi di questa procedura, poiché potrebbe condurre a risultati erranei.
6. Se possibile, utilizzare guanti privi di talco per minimizzare l'introduzione di particelle di polvere nel campione o nei materiali del kit.
7. Una volta aperto, questo prodotto è stabile per 30 giorni se conservato alla temperatura consigliata.
8. È stato dimostrato che il rendimento di questo kit non viene influenzato da un massimo di otto cicli di congelamento-scongelo.

#### Informazioni sulla sicurezza

La scheda tecnica dei materiali (MSDS) è disponibile presso [www.affymetrix.com](http://www.affymetrix.com). Se il prodotto è un kit, oppure è composto da più di un materiale, fare riferimento alla scheda tecnica MSDS di ciascun componente per informazioni sui rischi.

#### Indicazioni di instabilità o deterioramento

All'arrivo, ispezionare le confezioni. Se l'etichetta antimanomissione è forata, non utilizzare il contenuto della confezione. Per richiedere assistenza o supporto tecnico, rivolgersi ad Affymetrix.

#### Procedure di lavoro

Il controllo Poly-A e il tampone di diluizione sono compresi nel kit per preparare le appropriate diluizioni seriali in funzione della quantità iniziale di RNA totale (tabella 1.0). Tale linea guida suppone l'utilizzo di 100, 200, 500 o 1000 ng di RNA totale come materiale iniziale. Per altre quantità intermedie di campione iniziale, è necessario calcolare le appropriate diluizioni, in modo da conseguire la stessa concentrazione finale proporzionale dei controlli preparati.

I passaggi e le istruzioni dettagliati per le procedure sopra riportate sono riportati nel *manuale d'istruzione dei reagenti Gene Profiling Affymetrix*, accessibile sul sito [www.affymetrix.com](http://www.affymetrix.com).

Tabella 1.0. Diluizioni seriali del controllo Poly-A

Quantità iniziale di RNA totale	Diluizioni seriali				Volume da aggiungere all'RNA totale
	Prima	Seconda	Terza	Quarta	
100 ng	1:20	1:50	1:50	1:5	1 µL
200 ng	1:20	1:50	1:50	1:2,5	1 µL
500 ng	1:20	1:50	1:50		1 µL
1000 ng	1:20	1:50	1:25		1 µL

Ad esempio, per preparare le diluizioni di Poly-A per 200 ng di RNA totale:

1. Etichettare 4 provette per microcentrifuga non aderente priva di RNasi con le diciture 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> diluizione.
2. Una volta scongelato e portato a temperatura ambiente il tampone di diluizione, pipettare 38 µL nella prima provetta di diluizione, 98 µL nella seconda e nella terza e 6 µL nella quarta. Rimettere il tampone di diluizione in congelatore. Conservare le provette a temperatura ambiente.
3. Scongelo il controllo Poly-A e portarlo a temperatura ambiente. Una volta scongelato, miscelare picchiando la provetta ed eseguendone lo spin down, in modo da depositare il liquido sul fondo. Continuare

immediatamente con il passo 4.

4. Aggiungere 2 µL di soluzione di controllo Poly-A ai 38 µL di tampone di diluizione nella provetta etichettata 1<sup>a</sup> diluizione (1:20). Rimettere il controllo Poly-A in congelatore.
5. Miscelare completamente picchiettando la provetta ed eseguendone lo spin down per depositare il liquido sul fondo della provetta stessa.
6. Aggiungere 2 µL della 1<sup>a</sup> diluizione ai 98 µL del tampone di diluizione nella provetta etichettata 2<sup>a</sup> diluizione (1:50).
7. Miscelare a fondo ruotando la provetta verso il basso per depositare il liquido sul fondo.
8. Aggiungere 2 µL della 2<sup>a</sup> diluizione ai 98 µL del tampone di diluizione nella provetta etichettata 3<sup>a</sup> diluizione (1:50).
9. Miscelare completamente picchiettando la provetta ed eseguendone lo spin down depositare il liquido sul fondo della provetta stessa.
10. Aggiungere 4 µL di 3<sup>a</sup> diluizione agli 6 µL del tampone di diluizione nella provetta etichettata 4<sup>a</sup> diluizione (1:2,5).
11. Miscelare completamente picchiettando la provetta ed eseguendone lo spin down per depositare il liquido sul fondo della provetta stessa.
12. Utilizzare la quarta diluizione per preparare la soluzione descritta nella Preparazione della reazione di sintesi del 1<sup>a</sup> filamento di cDNA.

I passaggi e le istruzioni dettagliati per le procedure sopra riportate sono riportati nel *manuale d'istruzione dei reagenti Gene Profiling Affymetrix*, accessibile sul sito [www.affymetrix.com](http://www.affymetrix.com).

### Limitazioni della procedura

La buona conservazione e l'appropriato maneggio dei reagenti e dei campioni sono essenziali ai fini del buon rendimento del test. Non conservare il kit di controllo RNA in un congelatore autosbrinante. Tutte le apparecchiature di laboratorio utilizzate per preparare il target durante questa procedura vanno calibrate e mantenute in buone condizioni per assicurare la precisione. La misurazione errata dei reagenti può compromettere l'esito della procedura.

### Licenza limitata

L'impiego dei prodotti Affymetrix è soggetto alle clausole ed alle condizioni che governano l'uso dei prodotti Affymetrix. Affymetrix concede una licenza non esclusiva, non trasferibile e senza non cedibile quale licenza secondaria d'uso di questo prodotto Affymetrix, in conformità esclusiva al manuale e alle istruzioni scritte fornite da Affymetrix. È necessario leggere e concordare che, fatto salvo quanto esplicitamente stabilito nelle clausole e nelle condizioni di Affymetrix, questo prodotto Affymetrix non concede né implica alcun diritto o licenza in merito ad alcun brevetto o proprietà intellettuali di Affymetrix o concedibili su licenza dalla stessa. Nello specifico, l'utilizzo di questo prodotto Affymetrix non concede né implica alcun diritto o licenza in combinazione con un prodotto non fornito, concesso su licenza o specificamente consigliato da Affymetrix per tale uso.

### Marchi di fabbrica

Affymetrix®, Axiom™, Command Console®, DMET™, GeneAtlas™, GeneChip®, GeneChip-compatible™, GeneTitan®, Genotyping Console™, myDesign™, NetAffx®, OncoScan™, Powered by Affymetrix™, Procarta® e QuantiGene® sono marchi di fabbrica o marchi depositati di Affymetrix, Inc.

Asuragen® è un marchio depositato di Asuragen, Inc.

Tutti gli altri marchi sono proprietà dei rispettivi detentori.












### Copyright

© 2009-2011 Affymetrix, Inc. Tutti i diritti riservati.

### Tabella dei simboli

La tabella seguente riporta la legenda dei simboli grafici riportati sull'etichetta dei prodotti Affymetrix, sui foglietti illustrativi e sul manuale d'istruzioni.

Tabella 2.0. Simboli grafici usati per le etichette

Simbolo / Dicitura	Descrizione
	Numero di parte/catalogo
	Numero di lotto
	Data di scadenza AAAA-MM. Il kit scade l'ultimo giorno del mese.
	Limitazione di temperatura
	Contenuto sufficiente per < n > test
Xi	Sostanza irritante
	Pericoli
	Leggere le istruzioni per l'uso
	Produttore
	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>
	Omologazione europea
	Rappresentante autorizzato per la l'Unione europea

Versioni tradotte di questo foglietto illustrativo sono disponibili presso il sito Web di Affymetrix.

### Informazioni sui contatti

 Affymetrix, Inc.,  
3420 Central Expressway,  
Santa Clara, CA 95051 USA  
Prodotto da Asuragen® per Affymetrix, Inc.

 Emergo Europe  
Molenstraat 15  
2513 BH, L'Aia  
Paesi Bassi  
Phone: +31.70.345.8570  
Fax: +31.70.346.7299

Per richiedere supporto tecnico, rivolgersi a Affymetrix inviando una e-mail all'apposito l'indirizzo oppure telefonando al numero riportato sotto.

#### Affymetrix, Inc.

3420 Central Expressway  
Santa Clara, CA 95051 USA  
E-mail: [support@affymetrix.com](mailto: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  
Regno Unito  
E-mail: [supporteurope@affymetrix.com](mailto:supporteurope@affymetrix.com)  
Tel: +44 (0) 1628 552550  
Fax: +44 (0) 1628 552585  
[www.affymetrix.com](http://www.affymetrix.com)