

Affymetrix® Κιτ αντιδραστηρίων γονιδιακού προφίλ

Κιτ σύνθεσης και σήμανσης μεταγράφων



Χρήση για την οποία προορίζεται

Για In Vitro διαγνωστική χρήση

Τα αντιδραστήρια γονιδιακού προφίλ Affymetrix® προορίζονται για την προετοιμασία του στόχου σηματοδοτούμενου συμπληρωματικού RNA από απομονωμένο ολικό RNA που προέρχεται από πρόσφατα ή κατεψυγμένα κλινικά δείγματα ιστού για υβριδοποίηση στις μικροσυστοιχίες GeneChip® της Affymetrix, καθώς και τη μέτρηση των σημάτων φθορισμού του στόχου σηματοδοτούμενου RNA με χρήση του συστήματος οργάνων μικροσυστοιχίας GeneChip® της Affymetrix.

Προορίζεται για χρήση με προσδιορισμούς μικροσυστοιχιών GeneChip της Affymetrix που έχουν εγκριθεί ξεχωριστά από τον FDA και οι οποίοι απαιτούν τη χρήση αντιδραστηρίων γονιδιακού προφίλ Affymetrix.

Περίληψη

Το κιτ σύνθεσης και σήμανσης μεταγράφων είναι βελτιστοποιημένο ειδικά για παραγωγή στόχου ενισχυμένου και βιοτινυλιωμένου συμπληρωματικού RNA (cRNA) οι οποίοι υβριδοποιούνται σε συστοιχίες για ανάλυση έκφρασης. Η μήτρα DNA για την αντίδραση in vitro μεταγραφής (IVT) είναι ένα τυπικό δίκλωνο cDNA το οποίο περιέχει την αλληλουχία του υποκινητή μιας RNA πολυμεράσης. Στα πειράματα σήμανσης του στόχου, η αλληλουχία του υποκινητή ενσωματώνεται στη μήτρα cDNA με χρήση ενός εκκινητή Oligo(dT)-υποκινητή στην αρχική αντίδραση αντίστροφης μεταγραφής. Μπορεί να ληφθεί επαρκής ποσότητα μήτρας cDNA από αρχικά υλικά υψηλής ποιότητας, εάν χρησιμοποιηθούν τα πρωτόκολλα (που περιγράφονται στο *Εγχειρίδιο χρήσης αντιδραστηρίων γονιδιακού προφίλ της Affymetrix*). Το σηματοδοτούμενο ανάλογο νουκλεοτιδίου, με τη μορφή αντιδραστηρίου ψευδοουριδίνης, ενσωματώνεται αποτελεσματικά στο στόχο cRNA κατά τη διάρκεια της αντίδρασης σήμανσης με in vitro μεταγραφής η οποία διαμεσολαβείται από την RNA πολυμεράση. Οι στόχοι βιοτινυλιωμένου cRNA, στη συνέχεια, απομονώνονται, κατακερματίζονται και υβριδοποιούνται στις συστοιχίες έκφρασης.

Συστατικά του κιτ

Το πιστοποιητικό ανάλυσης διατίθεται στη διαδικτυακή τοποθεσία της Affymetrix.

Συστατικό	P/N	Όγκος	Φύλαξη
Κιτ σύνθεσης και σήμανσης μεταγράφων A	P/N 901293		
Ρυθμιστικό διάλυμα σύνθεσης 1 ^{ου} κλώνου (1 st Strand Synthesis Buffer)	901287	128 μl	2 έως 8 °C
Ρυθμιστικό διάλυμα σύνθεσης 2 ^{ου} κλώνου (2 nd Strand Synthesis Buffer)	901288	576 μl	2 έως 8 °C
Ρυθμιστικό διάλυμα In-Vitro μεταγραφής (In-Vitro Transcription Buffer)	901291	704 μl	2 έως 8 °C
Μαγνητικά σφαιρίδια (Magnetic Beads)	901290	3 456 μl	2 έως 8 °C
Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης σφαιριδίων (Beads Wash Buffer)	901289	5 400 μl	2 έως 8 °C
Νερό ελεύθερο νουκλεασών (Nuclease-free Water)	901292	1 648 μl	2 έως 8 °C
Κιτ σύνθεσης και σήμανσης μεταγράφων B	P/N 901298		
Μείγμα ενζύμων σύνθεσης 1 ^{ου} κλώνου (1 st Strand Synthesis Enzyme Mix)	901294	32 μl	-15 έως -30 °C
Μείγμα ενζύμων σύνθεσης 2 ^{ου} κλώνου (2 nd Strand Synthesis Enzyme Mix)	901295	64 μl	-15 έως -30 °C
Μείγμα ενζύμων In-Vitro μεταγραφής (In-Vitro Transcription Enzyme Mix)	901296	192 μl	-15 έως -30 °C
Διάλυμα μορίου σήμανσης RNA (RNA Label)	901297	64 μl	-15 έως -30 °C

Άλλα αντιδραστήρια γονιδιακού προφίλ που δεν παρέχονται σε αυτό το κιτ

Συστατικό	P/N
Κιτ μαρτύρων RNA	901285
Κιτ ανίχνευσης μεταγράφων A, B, C	901299

Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

1. Για In Vitro διαγνωστική χρήση.
2. Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση, η οποία είναι δυνατό να προκαλέσει εσφαλμένα αποτελέσματα.
3. Θα πρέπει να χειρίζεστε όλα τα βιολογικά δείγματα και τα υλικά με τα οποία έρχονται σε επαφή τα δείγματα ως ικανά για μετάδοση λοίμωξης και να τα απορρίπτετε λαμβάνοντας τις κατάλληλες προφυλάξεις, σύμφωνα με τους ομοσπονδιακούς, πολιτειακούς και τοπικούς κανονισμούς. Αυτό περιλαμβάνει την τήρηση του Προτύπου παθογόνων οργανισμών που μεταδίδονται μέσω του αίματος του Οργανισμού για την Ασφάλεια και την Υγεία στην Εργασία (OSHA, Occupational Safety and Health Administration) (29 CFR 1910.1030) για το αίμα και άλλα δυνητικά λοιμογόνα υλικά τα οποία διέπονται από αυτόν τον νόμο. Μην εκτελείτε ποτέ αναρρόφηση με το στόμα. Αποφύγετε την επαφή του δείγματος με το δέρμα και τους βλεννογόνους.
4. Εφαρμόστε τις τυπικές προφυλάξεις κατά τη λήψη, το χειρισμό και την απόρριψη δυνητικά καρκινογόνων αντιδραστηρίων.
5. Προσέξτε ώστε να αποφύγετε τη διασταυρούμενη μόλυνση των δειγμάτων κατά τη διάρκεια όλων των βημάτων αυτής της διαδικασίας, καθώς αυτό μπορεί να προκαλέσει εσφαλμένα αποτελέσματα.
6. Χρησιμοποιήστε γάντια χωρίς πούδρα, όποτε είναι δυνατό, για να ελαχιστοποιήσετε την εισαγωγή σωματιδίων πούδρας στο δείγμα ή στα υλικά του κιτ.
7. Αφού ανοιχτεί, αυτό το προϊόν παραμένει σταθερό για 20 ημέρες, όταν φυλάσσεται στη συνιστώμενη θερμοκρασία φύλαξης.
8. Έχει καταδειχτεί ότι η απόδοση του κιτ δεν επηρεάζεται για έως και τέσσερις κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.

Πληροφορίες σχετικά με την ασφάλεια

Το(τα) φύλλο(α) δεδομένων ασφαλείας υλικού (MSDS) είναι διαθέσιμο(α) στη διαδικτυακή τοποθεσία www.affymetrix.com. Εάν το προϊόν είναι κιτ ή εάν παρέχεται σε μορφή που περιέχει περισσότερα από ένα υλικά, ανατρέξτε στο φύλλο δεδομένων ασφαλείας υλικού (MSDS) καθέ συστατικού για τις πληροφορίες σχετικά με την επικινδυνότητα.

Ενδείξεις αστάθειας ή αλλοίωσης

Επιθεωρήστε τις συσκευασίες κατά την αφίξη τους. Εάν η ετικέτα ένδειξης αλλοίωσης έχει ανοιχτεί κατά τις διατηρήσεις, μην χρησιμοποιήσετε τα περιεχόμενα της συσκευασίας. Για εξυπηρέτηση πελατών ή τεχνική υποστήριξη, επικοινωνήστε με την Affymetrix.

Διαδικασίες ροής εργασιών

Διαδικασία 1: Προετοιμασία της αντίδρασης σύνθεσης του 1^{ου} κλώνου cDNA

Σημείωση: Προετοιμάστε το ρυθμιστικό διάλυμα σύνθεσης 1^{ου} κλώνου και το μείγμα ενζύμων σύνθεσης 1^{ου} κλώνου πριν από τη χρήση, με ήπια ανάδευση σε ανακινήτρια τύπου vortex, η οποία ακολουθείται από σύντομη φυγοκέντρηση.

1. Αναμείξτε το μείγμα αντιδραστηρίων της in vitro μεταγραφής (IVT) σε θερμοκρασία δωματίου, όπως περιγράφεται στον πίνακα 1.0. Παρασκευάστε 15% επιπλέον μείγμα αντιδραστηρίων της in vitro μεταγραφής (IVT), ώστε να διασφαλίσετε ότι διατίθεται επαρκής όγκος για όλα τα πηγάδια. Αναμείξτε με ήπια ανάδευση σε ανακινήτρια τύπου vortex και, κατόπιν, πραγματοποιήστε σύντομη φυγοκέντρηση.

Πίνακας 1.0 Προετοιμασία μείγματος αντιδραστηρίων του 1ου κλώνου

Αντιδραστήριο	Όγκος/Αντίδραση
Ρυθμιστικό διάλυμα σύνθεσης 1 ^{ου} κλώνου (1 st Strand Synthesis Buffer)	4 μl
Μείγμα ενζύμων σύνθεσης 1 ^{ου} κλώνου (1 st Strand Synthesis Enzyme Mix)	1 μl
Μάρτυρας πολυαδενυλίωσης (Poly-A Control) ¹	1 μl

1. Ο μάρτυρας πολυαδενυλίωσης (Poly-A) πρέπει να αραιώνεται προτού χρησιμοποιηθεί σε αυτό το μείγμα αντιδραστηρίων. Δείτε τις οδηγίες που συνοδεύουν το κιτ μάρτυρα πολυαδενυλίωσης (Poly-A). Εναλλακτικά, λεπτομερείς οδηγίες βρίσκονται στο Εγχειρίδιο ανάλυσης γονιδιακού προφίλ της Affymetrix, το οποίο μπορεί να βρεθεί στη διαδικτυακή τοποθεσία www.affymetrix.com.

2. Μεταφέρετε 6 μl μείγματος αντιδραστηρίων του 1^{ου} κλώνου (σε θερμοκρασία δωματίου), στον πυθμένα των κατάλληλων πηγαδιών της πλάκας 96 πηγαδιών η οποία είναι τοποθετημένη σε έναν πλαστικό φορέα. Απορρίψτε τυχόν εναπομείναν μείγμα αντιδραστηρίων του 1^{ου} κλώνου.
3. Προσθέστε 4 μl δείγματος ολικού RNA (συνολικά 100 ng έως 1000 ng ανά αντίδραση) στα κατάλληλα πηγάδια της πλάκας 96 πηγαδιών, αναροφώντας ήπια με την πιπέτα και εκχύνοντας ξανά το περιεχόμενο 3 φορές, για να το αναμείξετε.

- Καλύψτε την πλάκα με αυτοκόλλητο φύλλο αλουμινίου και σφραγίστε προσεκτικά τα επάνω τμήματα των πηγαδιών με τη βοήθεια ενός κυλινδρικού εξαρτήματος πίεσης.
- Φυγοκεντρήστε σε 370 x g για 10 δευτερόλεπτα το πολύ σε θερμοκρασία δωματίου, έτσι ώστε το διάλυμα να συγκεντρωθεί στον πυθμένα των πηγαδιών.
- Αφαιρέστε την πλάκα από τη φυγόκεντρο και μεταφέρετέ την σε έναν θερμικό κυκλοποιητή, ο οποίος έχει ρυθμιστεί σε πρόγραμμα 42 °C για 2 ώρες, 4 °C για 10 λεπτά και 4 °C διατήρηση για την αντίδραση σύνθεσης του 1^{ου} κλώνου. Καλύψτε την πλάκα με ένα επίθεμα συμπίεσης προτού κλείσετε το θερμαινόμενο καπάκι.
- Αφαιρέστε την πλάκα μετά την ολοκλήρωση της επώασης σε θερμοκρασία 42 °C εντός 10 λεπτών από την έναρξη της επώασης σε θερμοκρασία 4 °C και φυγοκεντρήστε την πλάκα σε 370 x g για 10 δευτερόλεπτα το πολύ, ώστε το διάλυμα να συγκεντρωθεί στον πυθμένα των πηγαδιών. Αφαιρέστε την πλάκα από τη φυγόκεντρο και διατηρήστε την σε θερμοκρασία δωματίου.
- Προχωρήστε αμέσως στην προετοιμασία της αντίδρασης σύνθεσης του 2^{ου} κλώνου cDNA.

Διαδικασία 2: Προετοιμασία της αντίδρασης σύνθεσης του 2^{ου} κλώνου cDNA

Σημείωση: Αναμείξτε το ρυθμιστικό διάλυμα σύνθεσης 2^{ου} κλώνου και το μείγμα ενζύμων σύνθεσης 2^{ου} κλώνου πριν από τη χρήση, με ήπια ανάδευση σε ανακινητήρα τύπου vortex, η οποία ακολουθείται από σύντομη φυγοκέντρηση.

- Προετοιμάστε το μείγμα αντιδραστηρίων του 2^{ου} κλώνου σε σωληνάριο του 1,5 ml ελεύθερο νουκλεασών, σε θερμοκρασία δωματίου, όπως περιγράφεται στον πίνακα 2.0. Παρασκευάστε 10% επιπλέον μείγμα αντιδραστηρίων της *in vitro* μεταγραφής (IVT), ώστε να διασφαλίσετε ότι διατίθεται επαρκής όγκος για όλα τα πηγάδια. Αναμείξτε με ήπια ανάδευση σε ανακινητήρα τύπου vortex και, κατόπιν, πραγματοποιήστε σύντομη φυγοκέντρηση.

Πίνακας 2.0 Προετοιμασία μείγματος αντιδραστηρίων του 2^{ου} κλώνου

Αντιδραστήριο	Όγκος/Αντίδραση
Ρυθμιστικό διάλυμα σύνθεσης 2 ^{ου} κλώνου (2 nd Strand Synthesis Buffer)	18 μl
Μείγμα ενζύμων σύνθεσης 2 ^{ου} κλώνου (2 nd Strand Synthesis Enzyme Mix)	2 μl

- Αφαιρέστε προσεκτικά το αυτοκόλλητο φύλλο αλουμινίου από την πλάκα, η οποία είναι τοποθετημένη σε έναν πλαστικό φορέα.
- Μεταφέρετε 20 μl του μείγματος αντιδραστηρίων του 2^{ου} κλώνου στο πλευρικό τοίχωμα των κατάλληλων πηγαδιών της πλάκας 96 πηγαδιών σε θερμοκρασία δωματίου.
- Καλύψτε την πλάκα με αυτοκόλλητο φύλλο αλουμινίου και σφραγίστε προσεκτικά τα επάνω τμήματα με τη βοήθεια ενός κυλινδρικού εξαρτήματος πίεσης. Απορρίψτε τυχόν εναπομείναν μείγμα αντιδραστηρίων του 2^{ου} κλώνου.
- Φυγοκεντρήστε σε 370 x g για 10 δευτερόλεπτα το πολύ σε θερμοκρασία δωματίου, έτσι ώστε το διάλυμα να συγκεντρωθεί στον πυθμένα των πηγαδιών.
- Αφαιρέστε την πλάκα από τη φυγόκεντρο και μεταφέρετέ την σε έναν θερμικό κυκλοποιητή, ο οποίος έχει ρυθμιστεί σε πρόγραμμα 16 °C για 1 ώρα, 4 °C για 10 λεπτά και 4 °C διατήρηση για την αντίδραση σύνθεσης του 2^{ου} κλώνου.

Σημαντικό: Μην καλύπτετε την πλάκα με το θερμαινόμενο καπάκι κατά τη διάρκεια της επώασης στους 16 °C.

- Αφαιρέστε την πλάκα μετά την ολοκλήρωση της επώασης σε θερμοκρασία 16 °C εντός 10 λεπτών από την έναρξη της επώασης σε θερμοκρασία 4 °C και φυγοκεντρήστε την πλάκα σε 370 x g για 10 δευτερόλεπτα το πολύ, ώστε το διάλυμα να συγκεντρωθεί στον πυθμένα των πηγαδιών. Αφαιρέστε την πλάκα από τη φυγόκεντρο και διατηρήστε την σε θερμοκρασία δωματίου.
- Προχωρήστε αμέσως στην προετοιμασία της αντίδρασης *in vitro* μεταγραφής.

Διαδικασία 3: Προετοιμασία της αντίδρασης *in vitro* μεταγραφής (IVT)

Σημείωση: Αναμείξτε το ρυθμιστικό διάλυμα μεταγραφής *in vitro*, το μείγμα ενζύμων *in vitro* μεταγραφής και το διάλυμα μορίου σήμανσης RNA πριν από τη χρήση με ήπια ανάδευση σε ανακινητήρα τύπου vortex, η οποία ακολουθείται από σύντομη φυγοκέντρηση.

- Προετοιμάστε το μείγμα αντιδραστηρίων της *in vitro* μεταγραφής (IVT) σε θερμοκρασία δωματίου, όπως περιγράφεται στον πίνακα 3.0. Παρασκευάστε 10% επιπλέον μείγμα αντιδραστηρίων της *in vitro* μεταγραφής (IVT), ώστε να διασφαλίσετε ότι διατίθεται επαρκής όγκος για όλα τα πηγάδια. Αναμείξτε με ήπια ανάδευση σε ανακινητήρα τύπου vortex και, κατόπιν, πραγματοποιήστε σύντομη φυγοκέντρηση.

Table 3.0 Προετοιμασία μείγματος αντιδραστηρίων *in vitro* μεταγραφής (IVT)

Αντιδραστήριο	Όγκος/Αντίδραση
Ρυθμιστικό διάλυμα <i>In-Vitro</i> μεταγραφής (<i>In-Vitro</i> Transcription Buffer)	22 μl
Διάλυμα μορίου σήμανσης RNA (RNA Label)	2 μl
Μείγμα ενζύμων <i>In-Vitro</i> μεταγραφής (<i>In-Vitro</i> Transcription Enzyme Mix)	6 μl

- Αφαιρέστε προσεκτικά το αυτοκόλλητο φύλλο αλουμινίου από την πλάκα, η οποία είναι τοποθετημένη σε έναν πλαστικό φορέα.
- Μεταφέρετε 30 μl του μείγματος αντιδραστηρίων *in vitro* μεταγραφής (IVT) στο πλευρικό τοίχωμα των κατάλληλων πηγαδιών της πλάκας 96 πηγαδιών, τα οποία περιέχουν τα 30 μl της αντίδρασης του 2^{ου} κλώνου.
- Καλύψτε την πλάκα με αυτοκόλλητο φύλλο αλουμινίου και σφραγίστε προσεκτικά τα επάνω τμήματα των πηγαδιών με τη βοήθεια ενός κυλινδρικού εξαρτήματος πίεσης.
- Φυγοκεντρήστε σε 370 x g για 10 δευτερόλεπτα το πολύ σε θερμοκρασία δωματίου, έτσι ώστε το διάλυμα να συγκεντρωθεί στον πυθμένα των πηγαδιών.
- Αφαιρέστε την πλάκα από τη φυγόκεντρο και μεταφέρετέ την σε έναν θερμικό κυκλοποιητή, ο οποίος έχει ρυθμιστεί σε πρόγραμμα 40 °C για 16 ώρες*, 4 °C διατήρηση για την αντίδραση *in vitro* μεταγραφής (IVT). Καλύψτε την πλάκα με ένα επίθεμα συμπίεσης προτού κλείσετε το θερμαινόμενο καπάκι.

*Ο χρόνος επώασης βελτιστοποιήθηκε με χρήση 100 ng ολικού RNA εκχυλισμένου από κύτταρα HeLa, το οποίο διατίθεται στο εμπόριο. Ο χρόνος θα πρέπει να προσαρμόζεται με βάση την ταυτότητα, την ποιότητα και την αρχική ποσότητα του ολικού RNA που χρησιμοποιείται στην ανάλυση.

- Μετά την επώαση σε θερμοκρασία 40 °C, αφαιρέστε την πλάκα (όταν στην οθόνη του θερμικού κυκλοποιητή εμφανιστεί θερμοκρασία 4 °C) και φυγοκεντρήστε την σε 370 x g για 10 δευτερόλεπτα το πολύ, σε θερμοκρασία δωματίου, ώστε το διάλυμα να συγκεντρωθεί στον πυθμένα των πηγαδιών. Αφαιρέστε την πλάκα από τη φυγόκεντρο και διατηρήστε την σε θερμοκρασία δωματίου. Προχωρήστε στην απομόνωση του cRNA.

Διαδικασία 4: Απομόνωση του cRNA από την αντίδραση *In Vitro* μεταγραφής (IVT)

Σημαντικό: Προτού ξεκινήσετε την απομόνωση, μεταφέρετε νερό ελεύθερο νουκλεασών σε ένα σωληνάριο του 1,5 ml. Τοποθετήστε το νερό ελεύθερο νουκλεασών στο θερμοπλάνο, σε θερμοκρασία 60 °C για 10 λεπτά τουλάχιστον και αφήστε το νερό ελεύθερο νουκλεασών σε θερμοκρασία 60 °C έως τη χρήση.

Σημαντικό: Πριν από την πρώτη χρήση του ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης σφαιριδίων που περιέχεται στο κιτ, προσθέστε 12,6 ml αιθανόλης 100% στο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης σφαιριδίων και σημειώστε το πλάσιμο επιλογής, τα αρχικά και την ημερομηνία.

- Ανακινήστε τη φιάλη των μαγνητικών σφαιριδίων με ήπιες κινήσεις, για να επαναιωρήσετε τα σωματίδια τα οποία ενδέχεται να έχουν καθίσει.
- Προσθέστε 108 μl διαλύματος μαγνητικών σφαιριδίων σε κάθε μείγμα αντίδρασης *in vitro* μεταγραφής (IVT). Αναμείξτε αναροφώντας ήπια με την πιπέτα και εκχύνοντας ξανά το περιεχόμενο.
- Μεταφέρετε τα δείγματα από την πλάκα 96 πηγαδιών στην πλάκα 96 πηγαδιών με στρογγυλό πυθμένα.
- Μεταφέρετε την πλάκα πηγαδιών με στρογγυλό πυθμένα στον ανακινητήρα πλάκων και ανακινήστε σε μέτρια ταχύτητα για 2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.
- Τοποθετήστε την πλάκα στη μαγνητική βάση στήριξης και αφήστε τα σφαιρίδια να καθιζάνουν για 5 έως 10 λεπτά, ωστόσο το διάλυμα γίνει διαυγές και τα σφαιρίδια σχηματίσουν ένα ίζημα πάνω στο μαγνήτη.
- Όταν το μείγμα γίνει τελείως διαυγές, αφαιρέστε και απορρίψτε το υπερκείμενο, χρησιμοποιώντας μια πολυκάναλη πιπέτα, χωρίς να διαταράξετε τα σφαιρίδια.
- Αφήστε την πλάκα επάνω στη μαγνητική βάση στήριξης και πλύνετε κάθε δείγμα με 200 μl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης σφαιριδίων δύο φορές, αφαιρώντας όλη την ποσότητα του υπερκείμενου μετά από κάθε πλύση. Επώαση για 25-35 δευτερόλεπτα σε θερμοκρασία δωματίου κατά τη διάρκεια κάθε πλύσης.
- Αφήστε την πλάκα να στεγνώσει στον αέρα για 5 έως 7 λεπτά, τοποθετημένη επάνω στη μαγνητική βάση στήριξης.
- Αφαιρέστε την πλάκα από τη μαγνητική βάση στήριξης και, στη συνέχεια, προσθέστε 30 μl νερού ελεύθερου νουκλεασών, το οποίο έχει θερμανθεί στους 60 °C, στο πλευρικό τοίχωμα κάθε πηγαδιού δείγματος χρησιμοποιώντας επαναληπτική πιπέτα.

Σημαντικό: Λόγω της υψηλής θερμοκρασίας του νερού ελεύθερου νουκλεασών, όταν χρησιμοποιείτε την επαναληπτική πιπέτα, υπολογίστε να αναροφήσετε δύο επιπλέον δόσεις όγκου των 30 μl: Απορρίψτε τα πρώτα 30 μl προτού ξεκινήσετε την προσθήκη του διαλύματος στα δείγματα και μη χρησιμοποιήσετε τα τελευταία 30 μl του διαλύματος έκλουσης. Είναι σημαντικό να ακολουθήσετε τη σύσταση που περιγράφεται εδώ, ώστε να διασφαλίσετε τη διανομή σωστών όγκων σε κάθε δείγμα.

- Μεταφέρετε την πλάκα πηγαδιών με στρογγυλό πυθμένα σε έναν ανακινητήρα. Ανακινήστε με μέγιστη ταχύτητα για ένα λεπτό. Είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί μικροπιπέτα για την πλήρη ανατάραξη του ιζήματος, εάν αυτό δεν διαλυτοποιείται.
- Μεταφέρετε την πλάκα στη μαγνητική βάση στήριξης και αφήστε τα σφαιρίδια να καθιζάνουν για 3 έως 4 λεπτά.
- Μόλις το δείγμα γίνει τελείως διαυγές και τα σφαιρίδια έχουν καθίσει, αφαιρέστε 30 μl υπερκείμενου, χωρίς να αναταράξετε το ίζημα. Μεταφέρετε το υπερκείμενο που περιέχει το εκλουόμενο cRNA σε μια νέα πλάκα 96 πηγαδιών ή σε μεμονωμένα σωληνάρια.

Λεπτομερή βήματα και οδηγίες για τις παραπάνω διαδικασίες βρίσκονται στο *Εγχειρίδιο χρήσης αντιδραστηρίων γονιδιακού προφίλ Affymetrix* το οποίο μπορεί να βρεθεί στη διαδικτυακή τοποθεσία www.affymetrix.com.

Περιορισμοί της διαδικασίας

Η κατάλληλη φύλαξη και ο κατάλληλος χειρισμός των αντιδραστηρίων και των δειγμάτων είναι απαραίτητα για την απόδοση. Μη φυλάσσετε το kit σύνθεσης και σήμανσης μεταγράφων B σε καταψύκτη αυτόματης απόψυξης. Όλος ο εργαστηριακός εξοπλισμός που χρησιμοποιείται για την προετοιασία του στόχου κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας θα πρέπει να έχει βαθμονομηθεί και συντηρηθεί, ώστε να διασφαλίζεται η ακρίβεια. Τυχόν λανθασμένη μέτρηση των αντιδραστηρίων ενδέχεται να επηρεάσει την έκβαση της διαδικασίας.

Διπλώματα ευρεσιτεχνίας

Τα προϊόντα είναι δυνατό να καλύπτονται από ένα ή περισσότερα από τα παρακάτω διπλώματα ευρεσιτεχνίας: Αριθμοί διπλωμάτων ευρεσιτεχνίας στις Η.Π.Α. 6,864,059. Αυτό το προϊόν παρέχεται κατόπιν αδειάς της Asuragen, Inc.

Περιορισμένη άδεια

Με βάση τους όρους και τις προϋποθέσεις της Affymetrix που διέπουν τη χρήση των προϊόντων Affymetrix από εσάς, η Affymetrix σας παρέχει μια μη αποκλειστική, μη μεταβιβάσιμη και μη παραχωρήσιμη άδεια χρήσης αυτού του προϊόντος της Affymetrix αποκλειστικά σύμφωνα με το εγχειρίδιο και τις έγγραφες οδηγίες οι οποίες παρέχονται από την Affymetrix. Κατανοείτε και συμφωνείτε ότι κανένα δικαίωμα ή άδεια ευρεσιτεχνίας ή κάποια άλλη πνευματική ιδιοκτησία που ανήκει ή έχει παραχωρηθεί στην Affymetrix δεν εκφράζεται ή υπονοείται από αυτό το προϊόν Affymetrix, εκτός εάν διατυπώνεται ρητά στους όρους και τις προϋποθέσεις της Affymetrix. Συγκεκριμένα, δεν εκφράζεται και δεν υπονοείται κανένα δικαίωμα ή άδεια για τη χρήση αυτού του προϊόντος Affymetrix σε συνδυασμό με ένα προϊόν το οποίο δεν παρέχεται, δεν εγκρίνεται, ούτε συνιστάται ειδικά από την Affymetrix για τέτοια χρήση.

Εμπορικά σήματα

Τα Affymetrix®, Axiom™, Command Console®, DMET™, GeneAtlas™, GeneChip®, GeneChip-compatible™, GeneTitan®, Genotyping Console™, myDesign™, NetAffx®, OncoScan™, Powered by Affymetrix™, Procarta®, και QuantiGene® είναι εμπορικά σήματα ή σήματα κατατεθέντα της Affymetrix, Inc.

Το Asuragen® είναι σήμα κατατεθέν της Asuragen, Inc.

Όλα τα υπόλοιπα εμπορικά σήματα αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατασκευαστών τους.













Πνευματικά δικαιώματα

© 2009-2011 Affymetrix, Inc. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

Πίνακας συμβόλων


Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται το υπόμνημα κάθε συμβόλου γραφικών που χρησιμοποιείται στην επισήμανση προϊόντων, στα ένθετα συσκευασιών και στο εγχειρίδιο χρήσης της Affymetrix.


Πίνακας 4.0 Σύμβολα γραφικών που χρησιμοποιούνται στην επισήμανση

Σύμβολο/ Ετικέτα	Δήλωση
	Αριθμός είδους/καταλόγου
	Αριθμός παρτίδας
	Ημερομηνία λήξης Το kit EEEE-MM θα λήξει την τελευταία ημέρα του μήνα.
	Περιορισμός θερμοκρασίας
	Περιέχει ποσότητα επαρκή για $n >>$ εξετάσεις
	Ερεθιστικό
	Επικίνδυνα υλικά
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Κατασκευαστής
	Μόνο για αξιολόγηση της απόδοσης <i>in vitro</i> διαγνωστικών προϊόντων (IVD)
	Ευρωπαϊκή συμμόρφωση
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Ένωση

Οι μεταφρασμένες εκδόσεις αυτού του ενθέτου συσκευασίας διατίθενται στη διαδικτυακή τοποθεσία της Affymetrix.

Πληροφορίες επικοινωνίας

 Affymetrix, Inc.,
3420 Central Expressway,
Santa Clara, CA 95051 Η.Π.Α.
Κατασκευάζεται από την Asuragen® για την Affymetrix, Inc.

 Emergo Europe
Molenstraat 15
2513 BH, The Hague
Ολλανδία
Αρ. τηλ.: +31.70.345.8570
Αρ. φαξ: +31.70.346.7299

Για τεχνική υποστήριξη, επικοινωνήστε με την Affymetrix στην κατάλληλη διεύθυνση ηλεκτρονικού ταχυδρομείου ή καλέστε στον παρακάτω αριθμό τηλεφώνου.

Affymetrix, Inc.

3420 Central Expressway
Santa Clara, CA 95051 Η.Π.Α.
Διεύθυνση ηλεκτρονικού ταχυδρομείου: support@affymetrix.com
Αρ. τηλ.: 1-888-362-2447 (1-888-DNA-CHIP)
Αρ. φαξ: 1-408-731-5441

Affymetrix UK Ltd

Voyager, Mercury Park,
Wycombe Lane, Wooburn Green,
High Wycombe HP10 0HH
Ηνωμένο Βασίλειο
Διεύθυνση ηλεκτρονικού ταχυδρομείου: supporteurope@affymetrix.com
Αρ. τηλ.: +44 (0) 1628 552550
Αρ. φαξ: +44 (0) 1628 552585
www.affymetrix.com