

MACHEREY-NAGEL  
 Manuale utente



RNA da sangue stabilizzato

■ NucleoSpin® Dx RNA Blood



*Dispositivo medico diagnostico in vitro*



740201.50



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG  
 Valencienner Str. · 11 52355 Düren · Germania,  
 Tel.: +49 24 21 969-0



50 prep.



Giugno 2025 / Rev. 02

## Contact MN

### Germany and international

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG  
Valenciennener Str. 11 · 52355 Düren · Germany  
Tel.: +49 24 21 969-0  
Toll-free: 0800 26 16 000 (Germany only)  
E-mail: [info@mn-net.com](mailto:info@mn-net.com)

### Technical Support Bioanalysis

Tel.: +49 24 21 969-333  
E-mail: [support@mn-net.com](mailto:support@mn-net.com)

### USA

MACHEREY-NAGEL Inc.  
924 Marcon Blvd. · Suite 102 · Allentown PA, 18109 · USA  
Toll-free: 888 321 6224 (MACH)  
E-mail: [sales-us@mn-net.com](mailto:sales-us@mn-net.com)

### France

MACHEREY-NAGEL SAS  
1, rue Gutenberg – BP135 · 67720 Hoerdt Cedex · France  
Tel.: +33 388 68 22 68  
E-mail: [sales-fr@mn-net.com](mailto:sales-fr@mn-net.com)

MACHEREY-NAGEL SAS (Société par Actions Simplifiée) au capital de 186600 €  
Siret 379 859 531 00020 · RCS Strasbourg B379859531 · N° intracommunautaire FR04 379 859 531

### Switzerland


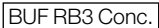

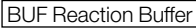

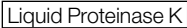

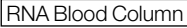
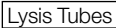
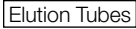


MACHEREY-NAGEL AG  
Hirsackerstr. 7 · 4702 Oensingen · Switzerland  
Tel.: +41 62 388 55 00  
E-mail: [sales-ch@mn-net.com](mailto:sales-ch@mn-net.com)

## Indice

1 Componenti	4
1.1 Contenuto del kit	4
1.2 Reagenti, prodotti di consumo e dispositivi che devono essere forniti dall'utilizzatore	5
1.3 Informazioni su questo manuale	5
2 Descrizione del prodotto	6
2.1 Uso previsto	6
2.2 Limiti all'uso del prodotto	6
2.3 Controllo qualità	6
2.4 Introduzione e specifiche del kit	6
2.5 Prestazioni analitiche e cliniche	8
2.6 Manipolazione, preparazione e conservazione dei materiali iniziali	10
2.7 Procedure di eluizione	10
3 Condizioni di conservazione e preparazione delle soluzioni di lavoro	11
4 Istruzioni di sicurezza	13
4.1 Smaltimento	13
5 Isolamento dell'RNA da S-Monovette® RNA Exact SARSTEDT con NucleoSpin® Dx RNA Blood	14
5.1 Il protocollo in breve	15
5.2 Procedura dettagliata	16
6 Appendice	18
6.1 Ricerca guasti	18
6.2 Obbligo di notifica	20
6.3 Letteratura generale	20
6.4 Informazioni per l'ordinazione	21
6.5 Spiegazione dei simboli	21
6.6 Restrizione all'uso del prodotto / garanzia	22

# 1 Componenti

## 1.1 Contenuto del kit

NucleoSpin® Dx RNA Blood		
REF	Simbolo	50 prep. 740201.50
Wash Buffer RB2		13 mL
Wash Buffer RB3 (Concentrate)**		12 mL
Membrane Desalting Buffer MDB		25 mL
Reaction Buffer for rDNase		7 mL
rDNase, RNase-free (lyophilized)*		2 fiale (dimensione D)
Liquid Proteinase K		600 µL
RNase-free H <sub>2</sub> O		13 mL
NucleoSpin® RNA Blood Columns (light blue rings -plus Collection Tubes)		50
Lysis Tubes (2 mL, with lid)		50
Elutions Tubes (1,5 mL)		50
Collection Tubes (2 mL)		150
User manual		1

\* Per la preparazione delle soluzioni di lavoro e le condizioni di conservazione vedere il paragrafo3.

## 1.2 Reagenti, prodotti di consumo e dispositivi che devono essere forniti dall'utilizzatore

Reagenti

- Etanolo 96 – 100 % (per preparare il Wash Buffer RB3)

Prodotti di consumo

- Puntali RNase-free

Dispositivo

- Pipettatori manuali
- Miscelatore vortex
- Centrifuga per provette da 2 mL per microcentrifuga
- Dispositivi di protezione personale (ad es. camici, guanti, occhiali)

## 1.3 Informazioni su questo manuale

Si raccomanda vivamente di leggere i paragrafi del protocollo dettagliato di questo manuale per l'utilizzatore. Il Protocollo in breve è pensato unicamente come strumento supplementare di rapida consultazione durante la procedura di purificazione.

I manuali per l'utilizzatore MACHEREY-NAGEL sono disponibili su internet all'indirizzo **[www.mn-net.com](http://www.mn-net.com)**.

Contattare il Servizio di Assistenza Tecnica per informazioni su eventuali modifiche del manuale corrente rispetto alle revisioni precedenti.

### Informazioni di contatto

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG  
Valenciennner Str. 11  
52355 Düren, Germania  
Tel.: +49 24 21 969-0  
Numero verde: 0800 26 16 000 (solo Germania)  
E-mail: [info@mn-net.com](mailto:info@mn-net.com)

### Supporto Tecnico Bioanalisi

Tel.: +49 24 21 969-333  
E-mail: [support@mn-net.com](mailto:support@mn-net.com)

I manuali per l'utilizzatore in altre lingue sono disponibili nell'area download nella pagina del prodotto.

Les manuels d'utilisation dans d'autres langues sont disponibles dans la section Téléchargements de la page du produit.

Los manuales de usuario en otros idiomas están disponibles en la sección de descargas de la página del producto.



## 2 Descrizione del prodotto

### 2.1 Uso previsto

**NucleoSpin® Dx RNA Blood** è un kit per l'isolamento dell'RNA umano da sangue intero raccolto nella *S-Monovette® RNA Exact* di SARSTEDT per la successiva analisi diagnostica *in vitro*. Il prodotto fornisce RNA umano purificato da usare per successiva analisi a valle quale RT-PCR, qRT-PCR o RNA-Seq, per ottenere informazioni sul livello di espressione dell'RNA nel campione. Il prodotto deve essere usato da professionisti in laboratori diagnostici.

Il kit **NucleoSpin® Dx RNA Blood** non è idoneo per autotest o test in presenza del paziente. L'utilizzatore deve possedere esperienza nelle tecniche di biologia molecolare, inclusa esperienza con sangue intero e altri campioni umani potenzialmente infettivi.

Si raccomanda l'adozione di opportuni controlli.

È possibile utilizzare solo sangue dalla *S-Monovette® RNA Exact*.

Il kit è per uso manuale.

### 2.2 Limiti all'uso del prodotto

Il kit **NucleoSpin® Dx RNA Blood** è destinato alla purificazione dell'RNA da sangue raccolto nella *S-Monovette® RNA Exact*. Il kit **NucleoSpin® Dx RNA Blood** non è stato convalidato per altri materiali campione (ad esempio, sangue trattato con EDTA).

Tenere presente che non è possibile escludere completamente un potenziale effetto inibitorio di sostanze contenute nel sangue (ad esempio, farmaci). Si raccomanda pertanto l'adozione di opportuni controlli.

### 2.3 Controllo qualità

In conformità con il sistema di gestione qualità di MACHEREY-NAGEL, ogni lotto di kit **NucleoSpin® Dx RNA Blood** è testato in base a specifiche predeterminate per garantire una qualità costante del prodotto.

### 2.4 Introduzione e specifiche del kit

Il kit **NucleoSpin® Dx RNA Blood** consente di isolare l'RNA da sangue intero raccolto in provette di raccolta ematica Sarstedt *S-Monovette® RNA Exact*. Uno degli aspetti più importanti nella purificazione dell'RNA consiste nell'evitare cambiamenti del livello di espressione dei trascritti dopo il prelievo del campione di sangue e prima della lisi, nonché impedire la degradazione dell'RNA durante la conservazione, il trasporto e l'isolamento. Il metodo **NucleoSpin® Dx RNA Blood** consente di isolare l'RNA da sangue raccolto nella *S-Monovette® RNA Exact* in cui i leucociti (la principale fonte di RNA nel sangue intero) e altre cellule ematiche vengono lisate immediatamente al contatto del sangue con la soluzione di stabilizzazione presente nella provetta di raccolta ematica. La soluzione di stabilizzazione contenuta nella *S-Monovette® RNA Exact* inattiva immediatamente le RNasi (virtualmente presenti in tutti i materiali biologici), facilita la conservazione e il trasporto dei campioni di sangue e crea le opportune condizioni di legame che favoriscono l'adsorbimento dell'RNA alla membrana in silice. La contaminazione del DNA, a sua volta legato alla membrana in silice, viene eliminata da una soluzione di DNase ricombinante (fornita) che viene applicata direttamente sulla membrana in silice durante la preparazione. Le semplici fasi di lavaggio con un tampone di lavaggio caotropico (RB2) e un tampone di lavaggio etanolico (RB3) eliminano i sali, i metaboliti e le componenti cellulari macromolecolari. L'RNA puro viene infine eluito in condizioni di bassa forza ionica con RNase-free H<sub>2</sub>O (fornita).

La preparazione dell'RNA con i kit **NucleoSpin® Dx RNA Blood** avviene a temperatura ambiente. Non è necessaria una centrifuga refrigerata. L'eluato, tuttavia, deve essere manipolato con cautela poiché l'RNA è molto sensibile alle contaminazioni da tracce di RNasi spesso presenti su oggetti comuni di laboratorio, impronte e polvere. Per garantirne la stabilità, conservare l'RNA congelato a -20 °C per brevi periodi o a -70 °C per lunghi periodi.

- Il kit **NucleoSpin® Dx RNA Blood** è raccomandato per l'isolamento dell'RNA da sangue intero raccolto in provette di raccolta ematica Sarstedt *S-Monovette® RNA Exact*. Non deve essere usato per l'isolamento dell'RNA da sangue raccolto in provette di raccolta ematica di altro tipo come provette contenenti EDTA, citrato o eparina.
- I kit **NucleoSpin® Dx RNA Blood** consentono la purificazione dell'RNA con un rapporto  $A_{260}/A_{280}$  tipicamente compreso tra 1,9 e 2,1 (misurato nel tampone TE, pH 7,5).
- L'RNA isolato è pronto da usare per successiva analisi a valle quale RT-PCR, qRT-PCR o RNA-Seq, per ottenere informazioni sul livello di espressione dell'RNA nel campione.
- L'RNA isolato con i kit **NucleoSpin® Dx RNA Blood** presenta tipicamente un'elevata integrità. Tuttavia, l'integrità dell'RNA dipende fortemente dalla qualità del campione che è influenzata dalla temperatura e dalla durata della conservazione.

Il livello di contaminazione del DNA viene notevolmente ridotto durante la digestione su colonna con rDNase. Nelle applicazioni molto sensibili è tuttavia possibile rilevare tracce di DNA. La probabilità di rilevare il DNA mediante PCR aumenta con:

1. il numero di copie di DNA per preparazione: target copia singola < target plasmidale / mitocondriale < plasmide transfettato nelle cellule.
2. la diminuzione delle dimensioni degli ampliconi di PCR.

**Tabella 1: Specifiche del kit in breve**

Parametro	NucleoSpin® Dx RNA Blood
Materiale campione	Soluzione di 1,2 mL di sangue stabilizzato da provette di raccolta ematica <i>S-Monovette® RNA Exact</i> (SARSTEDT REF 01.2048.001).
Formato	Colonnina di spin
Dimensione frammento	> 200 nt
Resa tipica	> 1 µg (0,7 – 4,2 µg) per preparazione da sangue di soggetti sani
$A_{260}/A_{280}$	1,6 – 2,2 (tipicamente 1,9– 2,1)
Volume di eluizione	60 µL o 40 µL
Capacità di legame teorica	200 µg
Tempo di preparazione	55 min / 6 preparazioni

Il kit **NucleoSpin® Dx RNA Blood** contiene un protocollo che consente di impiegare una soluzione di 1,2 mL di sangue stabilizzato da Sarstedt *S-Monovette® RNA Exact*.

L'RNA isolato può essere usato come template in reazioni (q)RT-PCR e analisi RNA-Seq. Generalmente, come template nelle reazioni RT-PCR è idoneo un volume di 1 – 4 µL di un eluito di 60 µL da un'unica preparazione.

## 2.5 Prestazioni analitiche e cliniche

Le prestazioni analitiche di **NucleoSpin® Dx RNA Blood** sono state valutate mediante quantificazione a valle di RNA isolato.

La ripetibilità all'interno di una stessa sessione relativa alla resa dell'RNA è stata determinata in base a 12 sessioni di preparazione indipendenti di 6 preparazioni ciascuna, per cui l'RNA è stato quantificato mediante spettrofotometria e/o fluorimetria. Il coefficiente medio di variazione (CV) della resa dell'RNA all'interno di una sessione è stato dell'11 % (6–20 %).

La variazione fra sessioni relativa alla resa dell'RNA è stata determinata mediante comparazione della resa dell'RNA di due sessioni, comprendenti ciascuna 6 preparazioni. La resa media dell'RNA dei due set ha presentato una differenza del 2 %.

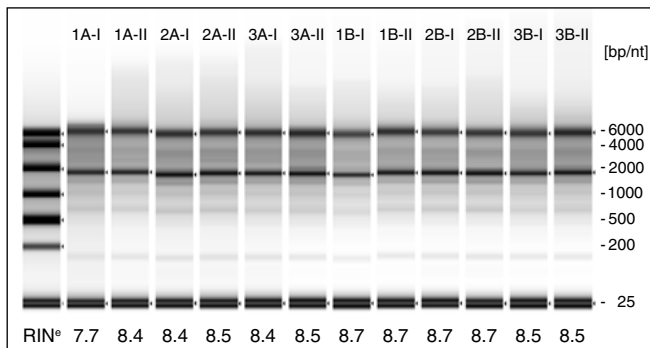
La ripetibilità fra lotti è stata determinata mediante comparazione della resa dell'RNA di tre lotti comprendenti sei preparazioni per lotto. La resa media fra lotti ha presentato una differenza del 1–3 %.

La riproducibilità fra operatori è stata determinata mediante comparazione della resa dell'RNA ottenuta da due operatori con sei preparazioni per operatore. La resa media dell'RNA fra operatori ha presentato una differenza del 35 %.

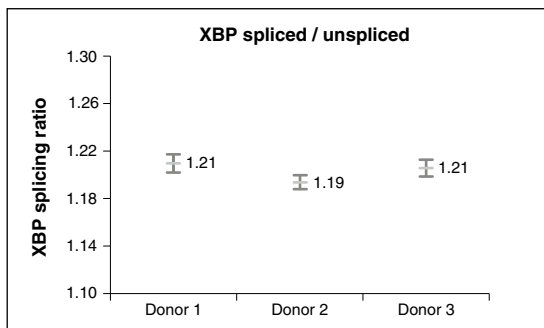
Lo splicing differenziale dei trascritti genetici XBP1 è stato esaminato in uno studio sulle carenze nella risposta allo stress cellulare. L'RNA è stato isolato da sangue umano raccolto nella SARSTEDT Monovette® RNA Exact. Sono stati prelevati in rapida successione due campioni di sangue da 3 donatori e successivamente conservati per 2 o 24 ore prima dell'estrazione dell'RNA mediante il kit **NucleoSpin® Dx RNA Blood**. La quantità e la qualità dell'RNA sono state determinate dopo analisi qRT-PCR di quattro trascritti (due geni di pulizia (ACTB, HPRT) e due varianti di splicing di XBP1).

**Tabella 2: Resa e qualità dell'RNA dopo l'isolamento dell'RNA da Monovette® RNA Exact SARSTEDT . 1, 2, 3 indicano i donatori; A, B indicano i duplicati da 2 provette di raccolta ematica. L'RNA è stato isolato dopo 2 h (I) e 24 h (II) dopo il prelievo. L'RNA è stato analizzato con gli strumenti NanoDrop™ e Qubit.**

Campione	Nanodrop			Qubit
	ng/μL	260/280	260/230	ng/μL
1A - I	45,2	2,08	1,94	44,9
1A - II	46,5	2,08	1,35	46,7
2A - I	50,4	2,05	1,77	47,2
2A - II	52,0	2,06	1,04	52,9
3A - I	55,3	2,02	1,31	52,4
3A - II	54,4	2,03	1,68	50,8
1B - I	44,0	2,03	1,66	41,4
1B - II	42,6	2,07	1,63	40,1
2B - I	53,0	2,00	1,06	49,9
2B - II	50,9	2,04	1,72	50,8
3B - I	50,3	2,04	1,20	50,1
3B - II	54,1	2,02	1,73	52,6
Ø	<b>49,9</b>	<b>2,0</b>	<b>1,5</b>	<b>48,3</b>
<b>Resa totale media RNA (volume di eluizione 40 μL)</b>	<b>2,5 μg</b>			<b>2,4 μg</b>



**Figura 1** Determinazione dell'integrità dell'RNA (RIN<sup>e</sup> = Numero di integrità dell'RNA mediante RNA ScreenTape<sup>®</sup>). È stato ottenuto un RIN<sup>e</sup> medio di 8,5. I campioni da sinistra verso destra rappresentano i campioni della Tabella 2 (da 1A-I a 3B-II).



**Figura 2** Analisi delle varianti di splicing per XBP1 (sottoposte/non sottoposte a splicing) tramite qRT-PCR da tre donatori sani.

## Conclusioni

In totale sono state effettuate dodici estrazioni dell'RNA con provette di raccolta ematica Monovette<sup>®</sup> RNA Exact e il kit NucleoSpin<sup>®</sup> Dx RNA Blood. Tutti i campioni hanno fornito RNA idoneo per la successiva analisi qRT-PCR.

Un confronto del rapporto tra trascritti dell'RNA sottoposti a splicing e non sottoposti a splicing derivati dal gene XBP1 ha evidenziato differenze minime tra i tre donatori, come illustrato nella figura seguente.

Le deviazioni standard per donatore illustrate, rappresentate dalle barre grigie, inglobano i replicati tecnici a due livelli: prima, raccolta del sangue con prelievi consecutivi; poi, tempo di conservazione (2 e 24 ore) della provetta di raccolta ematica. I risultati analitici accentuano la capacità di rilevare differenze minime nei livelli di stress cellulare anche all'interno della coorte dei tre donatori sani.

La letteratura esistente evidenzia come i pazienti che presentano risposte allo stress cellulare aberranti tendono a manifestare rapporti splicing/non splicing che vanno da 0,5 a 1,5. In tale contesto, è evidente che i processi di raccolta ematica, conservazione e isolamento dell'RNA

dimostrano una solidità e una precisione sufficienti per l'esame di individui affetti da disturbi di risposta allo stress cellulare.

L'uso diagnostico *in vitro* dei kit NucleoSpin® RNA Blood in combinazione con la *S-Monovette*® RNA Exact è descritto nelle pubblicazioni seguenti

- Linden J *et al.* (2020): Impact of RNA Stabilizing Blood Collection Tubes on Gene Expression Data Validity – A Comparison of *S-Monovette*® RNA Exact, PAXgene™ Blood RNA Tubes & Tempus™ Blood RNA Tubes. [https://www.sarstedt.com/fileadmin/user\\_upload/Mediacenter/Studien/an\\_007\\_rna-exact\\_monovette\\_0123.pdf](https://www.sarstedt.com/fileadmin/user_upload/Mediacenter/Studien/an_007_rna-exact_monovette_0123.pdf)
- Reith M. *et al.* (2022): Novel, Apparently Silent Variant in MFSD8 Causes Neuronal Ceroid Lipofuscinosis with Marked Intrafamilial Variability. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23, 2271. <https://doi.org/10.3390/ijms23042271>.

## 2.6 Manipolazione, preparazione e conservazione dei materiali iniziali

Il kit **NucleoSpin® Dx RNA Blood** è destinato all'isolamento dell'RNA totale da sangue raccolto nella *S-Monovette*® RNA Exact.

Il sangue deve essere raccolto nella Sarstedt *S-Monovette*® RNA Exact secondo il manuale di istruzioni della *S-Monovette*® RNA Exact. Per il sangue raccolto con questo tipo di provette devono essere rispettate le condizioni di trasporto e conservazione raccomandate per la *S-Monovette*® RNA Exact. L'efficienza di stabilizzazione dell'RNA della *S-Monovette*® RNA Exact è convalidata per 5 giorni a 22 °C e per 14 giorni a 8 °C. Per la conservazione a lungo termine è possibile il congelamento a temperature inferiori a -40 °C; si raccomanda una temperatura di conservazione a lungo termine di -80 °C.

Per i dettagli, consultare il sito: <https://www.sarstedt.com/produkte/diagnostik/venenblut/s-monovette/produkt/01.2048.001/>

Indossare sempre i guanti durante la preparazione. Sostituire i guanti di frequente.

## 2.7 Procedure di eluizione

È possibile regolare il volume di eluizione da 60 µL (volume di eluizione standard) a 40 µL, ottenendo una concentrazione dell'RNA leggermente maggiore.

L'RNA eluito deve essere immediatamente messo e mantenuto in ghiaccio per una stabilità ottimale e per evitare che le RNasi onnipresenti (oggetti comuni di laboratorio, impronte, polvere) degradino l'RNA. Per la conservazione a breve termine, congelare a -20 °C, mentre per la conservazione a lungo termine, congelare a -70 °C o a temperature inferiori.

### 3 Condizioni di conservazione e preparazione delle soluzioni di lavoro

**Attenzione:** I tamponi RB2 e MDB contengono sali caotropici. Indossare guanti e occhiali!

**ATTENZIONE:** I tamponi RB2 e MDB contengono sali di guanidinio che possono formare composti altamente reattivi se associati alla candeggina (ipoclorito di sodio). **NON** aggiungere candeggina o soluzioni acide direttamente ai materiali di scarto della preparazione dei campioni.

**Attenzione:**

- Dopo aver ricevuto il kit, controllare che i componenti non siano danneggiati. Se alcuni elementi del kit, quali i flaconi di tampone o i blister, sono danneggiati, contattare il supporto tecnico e il servizio di assistenza clienti di MACHEREY-NAGEL, o il distributore locale.
- Non usare componenti danneggiati del kit.
- L'rDNase liofilizzata viene spedita a temperatura ambiente nel kit. Conservare l'rDNase (RNase-free) liofilizzata a 4 °C al momento dell'arrivo (stabile fino al: vedere l'etichetta della confezione).
- Tutti gli altri componenti del kit devono essere conservati a 15–25 °C e sono stabili fino al: vedere l'etichetta della confezione. La conservazione a temperature inferiori potrebbe causare la precipitazione di sali.
- Le **NucleoSpin® RNA Blood Columns** possono essere usate fino alla data di scadenza indicata sulla confezione del kit
- Dopo il primo impiego, conservare la Liquid Proteinase K a 4 °C o -20 °C.
- Verificare che l'etanolo 96–100 % sia disponibile come soluzione aggiuntiva per la preparazione del Wash Buffer RB3.

Prima di avviare il protocollo **NucleoSpin® Dx RNA Blood**, preparare quanto segue:

- **rDNase (RNase-free):** Aggiungere il volume indicato di Reaction Buffer for rDNase (vedere tabella sottostante) alla fiala di rDNase e incubare per 1 min a temperatura ambiente. Agitare delicatamente le fiale per dissolvere completamente l'rDNase. Fare attenzione a non miscelare l'rDNase vigorosamente poiché l'rDNase è sensibile all'agitazione meccanica. Dispensare in aliquote e conservare a -20 °C. La soluzione di lavoro congelata è stabile per 6 mesi. Non congelare/scongelare le aliquote per più di tre volte. (Prestare attenzione durante l'apertura della fiala poiché alcune particelle del liofilizzato potrebbero essere attaccate al coperchio.)
- **Wash Buffer RB3:** Aggiungere il volume indicato di etanolo 96–100 % (vedere tabella sottostante) al Buffer RB3 Concentrate. Contrassegnare l'etichetta del flacone per indicare che è stato aggiunto l'etanolo. Conservare il Wash Buffer RB3 a 15–25 °C per un tempo massimo di un anno.

NucleoSpin® Dx RNA Blood	
<b>REF</b>	<b>50 prep. 740201,50</b>
Wash Buffer RB3 Concentrate	12 mL Aggiungere 48 mL di etanolo

**NucleoSpin® Dx RNA Blood**

rDNase, RNase-free (lyophilized)

2 fiale (dimensione D)  
Aggiungere 2,5 mL di Reaction Buffer for rDNase a  
ciascuna fiala

## 4 Istruzioni di sicurezza

Quando si lavora con i kit **NucleoSpin® Dx RNA Blood** indossare indumenti protettivi idonei (ad es. camice, guanti monouso e occhiali di sicurezza). Per maggiori informazioni consultare le relative schede di sicurezza (MSDS disponibili online nel sito [www.mn-net.com/msds](http://www.mn-net.com/msds))



Il materiale di scarto generato con i kit **NucleoSpin® Dx RNA Blood** non è stato testato per la presenza di materiali infettivi residui. Una contaminazione dei rifiuti liquidi con materiale infettivo residuo è altamente improbabile a causa del trattamento con reagente di stabilizzazione fortemente denaturante nella *S-Monovette® RNA Exact* e con Proteinase K, ma non può essere esclusa del tutto. Pertanto i rifiuti liquidi devono essere considerati infettivi e quindi manipolati ed eliminati secondo le norme di sicurezza locali in vigore.

### 4.1 Smaltimento

Smaltire i materiali pericolosi, infettivi o contaminati biologicamente con modalità sicure e accettabili e in conformità con le norme di legge locali.

## 5 Isolamento dell'RNA da *S-Monovette*® RNA Exact SARSTEDT con NucleoSpin® Dx RNA Blood

La procedura descritta di seguito fornisce le istruzioni per il processo di un unico campione ematico. Tuttavia è possibile processare più campioni contemporaneamente; il numero dipende dalla capacità della microcentrifuga utilizzata.

### **Prima di iniziare la preparazione:**

- Controllare che il Wash Buffer RB3 sia stato preparato in conformità con il paragrafo 3.
- Controllare che l'rDNase sia stata preparata in conformità con il paragrafo 3.
- La procedura completa deve essere eseguita a temperatura ambiente (15–25 °C).
- In generale, non mescolare reagenti e colonne di kit e lotti diversi.

## 5.1 Il protocollo in breve

Riepilogo aggiuntivo del protocollo: Leggere attentamente il protocollo dettagliato (paragrafo 5.2) prima di iniziare la procedura.

<b>Lisare il sangue</b>	<b>1</b>	Fornire sangue contenente <i>S-Monovette® RNA Exact</i>
	<b>2</b>	Trasferire 1,2 mL di soluzione in una provetta da 2 mL.
	<b>3</b>	10 µL di Proteinase K
	<b>4</b>	RT, 15 min (agitare)
	<b>5</b>	Centrifugare brevemente per pulire il tappo
<b>Legare il DNA/RNA</b>	<b>6</b>	Caricare 600 µL di lisato sulla colonna
	<b>7</b>	11.000 x g, 30 s
	<b>8</b>	Caricare il lisato restante (~600 µL)
	<b>9</b>	11.000 x g, 30 s
<b>Desalficare la membrana in silice</b>	<b>10</b>	350 µL MDB
	<b>11</b>	11.000 x g, 30 s
<b>Digerire il DNA</b>	<b>12</b>	95 µL rDNase
	<b>13</b>	RT, 15 min
<b>Lavare la membrana in silice</b>	<b>14</b>	200 µL RB2
	<b>15</b>	11.000 x g, 30 s
	<b>16</b>	600 µL RB3
	<b>17</b>	11.000 x g, 30 s
	<b>18</b>	250 µL RB3
	<b>19</b>	11.000 x g, 2 min
<b>Eluire il RNA</b>	<b>20</b>	Posizionare la colonna nella Collection Tube (1,5 mL) nuova
	<b>21</b>	60 µL RNase-free H <sub>2</sub> O
	<b>22</b>	11.000 x g, 30 s

---

## 5.2 Procedura dettagliata

---

- 1 Procurarsi la *S-Monovette*® RNA Exact SARSTEDT (contenente circa 2,4 mL di sangue in 7,3 mL di soluzione di stabilizzazione).

---

  - 2 **Trasferire 1,2 mL** di soluzione (sangue intero raccolto nella *S-Monovette*® RNA Exact) dalla *S-Monovette*® RNA Exact e trasferire in una Lysis Tube (2 mL provetta con tappo, fornita).

---

  - 3 Aggiungere **10 µL di Liquid Proteinase K**.

---

  - 4 Incubare per **15 min a temperatura ambiente** agitando vigorosamente la provetta. In alternativa, miscelare vigorosamente con il vortex per 30 sec prima dell'incubazione senza agitare.

---

  - 5 Centrifugare brevemente per pulire il tappo.

---

  - 6 Dispensare **600 µL** di lisato sulla **NucleoSpin® RNA Blood column** collocata in una Collection Tube (fornita). Il lisato potrebbe cominciare a fluire attraverso la colonna - questo è corretto.  
*Nota: Non pipettare più di 650 µL nella colonna spin per non sovraccaricare la colonna! Evitare la formazione di schiuma e aerosol! Evitare di bagnare il bordo della colonna.*

---

  - 7 Centrifugare per **30 s a 11.000 x g**.  
Gettare il flow-through e la Collection Tube. Mettere la colonna in una nuova Collection Tube (2 mL; fornita).

---

  - 8 **Dispensare il lisato restante** (circa 600 µL) sulla colonnina NucleoSpin® RNA Blood.

---

  - 9 Centrifugare per **30 s a 11.000 x g**.  
Gettare il flow-through e la Collection Tube. Mettere la colonna in una nuova Collection Tube (2 mL; fornita).

---

  - 10 Aggiungere **350 µL di MDB** (Membrane Desalting Buffer) sulla colonna.

---

  - 11 Centrifugare per **30 s a 11.000 x g**.  
*Nota: Dopo la centrifugazione, la colonna può rimanere nella Collection Tube, insieme al flow-through! Il flow-through potrebbe avere un colore brunoastro. Il flow-through può rimanere nella provetta senza disturbare la digestione del DNA.*

---

  - 12 Aggiungere **95 µL di rDNase** sulla colonna.

---

  - 13 Incubare a **temperatura ambiente** per **15 min**.  
*Nota: La centrifugazione dopo l'incubazione non è necessaria.*

---

  - 14 Aggiungere **200 µL di Buffer RB2** alla NucleoSpin® RNA Blood Column.  
*Nota: Il Buffer RB2 inattiverà l'rDNase.*

---

  - 15 Centrifugare per **30 s a 11.000 x g**.  
Gettare il flow-through e la Collection Tube e posizionare la colonna in una nuova Collection Tube (2 mL; fornita).
-

- 16** Aggiungere **600 µL di Buffer RB3** alla NucleoSpin® RNA Blood Column.

Nota: Assicurarsi che i residui di tampone delle fasi precedenti vengano lavati via con il Buffer RB3 soprattutto se il lisato è stato a contatto con il bordo interno della colonna durante il caricamento del lisato sulla colonna. Per un lavaggio efficace del bordo interno, sciacquare con il Buffer RB3.

---

- 17** Centrifugare per **30 s a 11.000 x g**.

Gettare il flow-through e posizionare la colonna in una nuova Collection Tube (2 mL; fornita).

---

- 18** Aggiungere **250 µL di Buffer RB3** alla NucleoSpin® RNA Blood Column.
- 

- 19** Centrifugare per **2 min a 11.000 x g**.

In questa fase si rimuove l'etanolo dalla colonna.

*Se, per una ragione qualunque, il livello del liquido nella Collection Tube dovesse raggiungere la NucleoSpin® RNA Blood Column dopo la centrifugazione, gettare il flow-through e centrifugare nuovamente.*

---

- 20** Posizionare la colonna in una Collection Tube (1,5 mL, fornita) priva di nucleasi e gettare la Collection Tube con il flow-through della fase precedente.
- 

- 21** Aggiungere **60 µL di RNase-free H<sub>2</sub>O** (fornita) sulla colonna.

Nota: in alternativa è possibile procedere all'eluizione con 40 µL.

---

- 22** Centrifugare per **30 s a 11.000 x g**.

L'RNA viene eluito nella Collection Tube.

---

## 6 Appendice

### 6.1 Ricerca guasti

Problema	Possibile causa e suggerimenti
L'RNA è degradato / L'RNA non è stato ottenuto	<p data-bbox="322 300 571 327"><i>Contaminazione da RNase</i></p> <ul data-bbox="322 335 984 491" style="list-style-type: none"> <li>• Creare un ambiente di lavoro privo di RNase. Indossare i guanti durante tutte le fasi della procedura. Sostituire i guanti di frequente. Si raccomanda l'uso di provette sterili in polipropilene usa e getta. Se possibile, tenere le provette chiuse durante la preparazione. La vetreria da laboratorio deve essere riscaldata in forno per almeno 2 ore a 250 °C prima dell'uso.</li> </ul>
Scarsa qualità o resa dell'RNA	<p data-bbox="322 507 778 534"><i>Reagenti non applicati o ripristinati correttamente</i></p> <ul data-bbox="322 542 984 730" style="list-style-type: none"> <li>• Reagenti non correttamente ripristinati. Aggiungere il volume indicato di etanolo al Buffer RB3 Concentrate e miscelare. Ricostituire e conservare l'rDNase liofilizzata secondo le istruzioni fornite nel paragrafo 3.</li> <li>• Il campione e i reagenti non sono stati completamente miscelati. Miscelare sempre vigorosamente con il vortex dopo l'aggiunta di ogni reagente.</li> </ul> <p data-bbox="322 738 520 766"><i>Conservazione del kit</i></p> <ul data-bbox="322 774 984 970" style="list-style-type: none"> <li>• Conservare l'rDNase liofilizzata/ricostituita secondo le istruzioni fornite nel paragrafo 3.</li> <li>• Conservare gli altri componenti del kit a temperatura ambiente. La conservazione a basse temperature può causare la precipitazione di sali.</li> <li>• Conservare i flaconi ben chiusi per evitare l'evaporazione o la contaminazione.</li> </ul> <p data-bbox="322 978 968 1034"><i>La forza ionica e il pH influenzano l'assorbimento dell'<math>A_{260}</math> e il rapporto <math>A_{260}/A_{280}</math></i></p> <ul data-bbox="322 1042 984 1225" style="list-style-type: none"> <li>• Per la misura dell'assorbimento dell'RNA isolato, usare 5 mM di Tris pH 8,5 come diluente. Vedere anche: <ul data-bbox="364 1093 984 1225" style="list-style-type: none"> <li>-Manchester, K L. 1995. Value of <math>A_{260}/A_{280}</math> ratios for measurement of purity of nucleic acids. <i>Biotechniques</i> 19, 208–209.</li> <li>-Wilfinger, W W, Mackey, K and Chomczynski, P. 1997. Effect of pH and ionic strength on the spectrophotometric assessment of nucleic acid purity. <i>Biotechniques</i> 22, 474–481.</li> </ul> </li> </ul>

Problema	Possibile causa e suggerimenti
NucleoSpin® Column intasata / Scarsa qualità o resa dell'RNA	<p data-bbox="325 209 505 228"><i>Materiale campione</i></p> <ul data-bbox="325 244 978 395" style="list-style-type: none"> <li>• Cattiva qualità del campione. Assicurarsi che il sangue venga raccolto nella <i>S-Monovette® RNA Exact</i> SARSTEDT secondo le istruzioni per l'uso. Assicurarsi di miscelare il sangue con la soluzione di stabilizzazione nella <i>S-Monovette® RNA Exact</i> immediatamente dopo il prelievo dal donatore secondo le istruzioni per l'uso.</li> </ul> <p data-bbox="325 411 654 430"><i>Condizioni di lisi/legame inadeguate</i></p> <ul data-bbox="325 446 978 515" style="list-style-type: none"> <li>• Assicurarsi di agitare durante l'incubazione della lisi secondo una delle due alternative descritte nel paragrafo 5.2.4. - l'agitazione è importante per la procedura!</li> </ul>
	<p data-bbox="325 539 490 558"><i>rDNase non attiva</i></p> <ul data-bbox="325 574 978 622" style="list-style-type: none"> <li>• Ricostituire e conservare l'rDNase liofilizzata secondo le istruzioni fornite nel paragrafo 3.</li> </ul> <p data-bbox="325 638 773 657"><i>Soluzione di DNase non correttamente applicata.</i></p> <ul data-bbox="325 673 978 715" style="list-style-type: none"> <li>• Pipettare la soluzione di rDNase direttamente al centro della membrana in silice.</li> </ul>
Contaminazione dell'RNA con DNA genomico	<p data-bbox="325 730 572 750"><i>Elevato numero di leucociti</i></p> <ul data-bbox="325 766 978 837" style="list-style-type: none"> <li>• Maggiore è il numero di leucociti, maggiore è il rischio di rilevare residui di DNA nell'RNA eluito. Per evitare ciò, attenersi alle raccomandazioni qui di seguito.</li> </ul> <p data-bbox="325 853 766 873"><i>Sistema di rilevamento del DNA troppo sensibile</i></p> <ul data-bbox="325 888 978 1187" style="list-style-type: none"> <li>• Il livello di contaminazione del DNA viene efficacemente ridotto durante la digestione su colonna con rDNase. Tuttavia non è possibile garantire che l'RNA purificato sia completamente privo di DNA. Pertanto, nelle applicazioni molto sensibili è comunque possibile rilevare tracce di DNA.</li> <li>• La probabilità di rilevare il DNA tramite PCR aumenta con:                         <ul data-bbox="362 1048 978 1120" style="list-style-type: none"> <li>- numero di copie di DNA per preparazione: target copia singola &lt; target mitocondriale &lt; plasmide trasdotto nelle cellule</li> <li>- diminuzione delle dimensioni degli ampliconi di PCR.</li> </ul> </li> <li>• Usare target PCR più grandi (ad esempio &gt; 500 bp) o primer intronici di amplificazione se possibile.</li> </ul>

Problema	Possibile causa e suggerimenti
<p>Prestazioni non ottimali dell'RNA in esperimenti a valle</p>	<p><i>Rimozione dell'etanolo o del sale</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Non lasciare che il flow-through tocchi l'uscita della colonna dopo il lavaggio del secondo Buffer RB3. Assicurarsi di centrifugare alla velocità e per il tempo corretti per rimuovere completamente il Buffer RB3 etanologico.</li> <li>• Verificare che il Buffer RB3 sia stato equilibrato a temperatura ambiente prima dell'uso. Il lavaggio a temperature inferiori riduce l'efficacia della rimozione del sale del Buffer RB3.</li> </ul> <p><i>Conservare correttamente l'RNA isolato.</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• L'RNA eluito deve sempre essere conservato in ghiaccio per una stabilità ottimale, poiché l'eventuale contaminazione da RNasi onnipresenti in traccia (oggetti comuni di laboratorio, impronte, polvere) degraderebbe l'RNA isolato. Per la conservazione a breve termine, congelare a -20 °C, mentre per la conservazione a lungo termine, congelare a -70 °C.</li> </ul>

Contatto:  
 MACHEREY-NAGEL Germania  
 Tel.: +49 (0) 24 21 969 333  
 e-mail: support@mn-net.com

## 6.2 Obbligo di notifica

Tenere presente che ogni incidente grave che si sia verificato in relazione al prodotto deve essere riferito immediatamente al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro europeo in cui l'incidente si è verificato. Recapiti della Vigilanza Europea: [https://ec.europa.eu/health/md\\_sector/contact\\_en](https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_en)

## 6.3 Letteratura generale

Ceylan A et al. (2022): Evaluation of mRNA Expression Levels of IL-10, IL-12, TGF- $\beta$ , FOXP3, IFN in Multiple Sclerosis Patients. Eastern Anatolian Journal of Science Volume VIII, Issue I, 2022, 9–14.

Genre F et al (2020): Omentin: a biomarker of cardiovascular risk in individuals with axial spondyloarthritis. Scientific Reports 10:9636, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66816-x>

Jennings LJ (2022): Normalization of NPM1 mutant transcript to the wild-type transcript. eJHaem. 2022;3:1343–1345.

Pulito-Cueto, V. et al. (2022): Angiogenic T Cells: Potential Biomarkers for the Early Diagnosis of Interstitial Lung Disease in Autoimmune Diseases?. Biomedicines 2022, 10, 851. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10040851>.

Shimizu T et al. (2022): Depletion of R270C Mutant p53 in Osteosarcoma Attenuates Cell Growth but Does Not Prevent Invasion and Metastasis In Vivo. Cells. 2022, 11, 3614. <https://doi.org/10.3390/cells11223614>.

Van der Sijde (2020): RNA from stabilized whole blood enables more comprehensive immune gene expression profiling compared to RNA from peripheral blood mononuclear cells. PLoS ONE 15(6): e0235413. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235413>

Yamagata H et al. (2023): Interferon signaling and hypercytokinemia-related gene expression in the blood of antidepressant non-responders. *Heliyon* 9 (2023) e13059.











Yuksel F et al (2023): The phenotypic spectrum of pathogenic ATP1A1 variants expands: the novel p.P600R substitution causes demyelinating Charcot-Marie-Tooth disease. *Journal of Neurology*, <https://doi.org/10.1007/s00415-023-11581-w>

## 6.4 Informazioni per l'ordinazione

Prodotto	REF	Confezione
<b>Kit con marchio CE-IVD</b>		
NucleoSpin® Dx RNA Blood	740201.50	50
NucleoSpin® Dx Blood	740899.50 / .250	50 / 250
NucleoSpin® Dx Virus	740895.50	50
NucleoSpin® Dx Pathogen	744215.4	4 × 96
<b>Kit a fini di ricerca</b>		
NucleoSpin® RNA Blood	740200.10 / 50	10 / 50
NucleoSpin® RNA Blood Midi	740210.20	20
NucleoSpin® 8 RNA Blood	740220 / .5	12 × 8 / 60 × 8
NucleoSpin® 96 RNA Blood	740225.2 / .4	2 × 96 / 4 × 96

Visitare [www.mn-net.com](http://www.mn-net.com) per informazioni più dettagliate sul prodotto.

## 6.5 Spiegazione dei simboli

 REF	Numero articolo		Utilizzare entro
 LOT	Identificazione lotto		Attenzione: Ulteriori informazioni nel manuale per l'utilizzatore
	Fabbricante		Non riutilizzare
 IVD	Prodotti diagnostici <i>in vitro</i>		
	Leggere le istruzioni per l'uso		
	Sufficiente per < n > test		
	Limiti di temperatura permessi per la conservazione		

## 6.6 Restrizione all'uso del prodotto / garanzia

I componenti del kit **NucleoSpin® Dx RNA Blood** sono destinati, sviluppati, concepiti e venduti AI SOLI FINI DI RICERCA, ad eccezione tuttavia di ogni altra funzione del prodotto espressamente descritta negli opuscoli del prodotto originale MACHEREY-NAGEL.

I prodotti MACHEREY-NAGEL sono **ESCLUSIVAMENTE** destinati all'USO GENERALE DI LABORATORIO! I prodotti MACHEREY-NAGEL sono destinati **ESCLUSIVAMENTE** a PERSONALE QUALIFICATO! I prodotti MACHEREY-NAGEL devono sempre essere usati indossando **INDUMENTI PROTETTIVI** idonei. Per maggiori informazioni si prega di fare riferimento alla rispettiva scheda di sicurezza (MSDS) del prodotto! I prodotti MACHEREY-NAGEL devono essere utilizzati esclusivamente in un **AMBIENTE DI TEST IDONEO**. MACHEREY-NAGEL non si assume responsabilità per danni derivanti da un'impropria applicazione dei nostri prodotti in altri campi di applicazione. L'applicazione al corpo umano è **RIGOROSAMENTE VIETATA**. Il relativo utilizzatore è responsabile degli eventuali danni derivanti da tale applicazione.

I prodotti di purificazione di DNA/RNA/PROTEINE di MACHEREY-NAGEL sono indicati **ESCLUSIVAMENTE PER L'USO IN VITRO!**

SOLO i prodotti MACHEREY-NAGEL con speciale etichettatura IVD sono idonei anche all'uso diagnostico *IN VITRO*. Prestare attenzione alla confezione del prodotto. I prodotti diagnostici *IN VITRO* sono espressamente contrassegnati come IVD sulla confezione.

**IN ASSENZA DEL CONTRASSEGNO IVD, IL PRODOTTO NON È IDONEO ALL'USO DIAGNOSTICO IN VITRO!**

**QUALSIASI ALTRO PRODOTTO NON RECANTE IL CONTRASSEGNO IVD NON È IDONEO ALL'USO CLINICO (INCLUSO, MA NON SOLO, L'USO DIAGNOSTICO, TERAPEUTICO E/O PROGNOSTICO).**

Nessuna affermazione o dichiarazione è destinata ad essere utilizzata per identificare un organismo specifico o l'uso clinico (incluso, ma non solo, l'uso diagnostico, prognostico, terapeutico o in banche del sangue). È invece responsabilità dell'utilizzatore o, in caso di rivendita dei prodotti, del rivenditore ispezionare e assicurare che i prodotti di purificazione del DNA/RNA/delle proteine di MACHEREY-NAGEL siano utilizzati per un'applicazione ben definita e specifica.

MACHEREY-NAGEL è esclusivamente responsabile delle specifiche di prodotto e delle prestazioni dei prodotti MN secondo le specifiche del controllo qualità interno, la documentazione del prodotto e il materiale pubblicitario.

Questo prodotto MACHEREY-NAGEL viene spedito con una documentazione che riporta le specifiche e altre informazioni tecniche. MACHEREY-NAGEL garantisce la conformità a dette specifiche. Il solo obbligo di MACHEREY-NAGEL e il solo rimedio per il cliente sono limitati alla sostituzione gratuita dei prodotti, qualora questi non raggiungessero le prestazioni garantite. Si fa inoltre riferimento alle condizioni commerciali generali di MACHEREY-NAGEL, stampate sul listino prezzi. Si prega di contattarci per richiedere eventualmente una copia extra.

MACHEREY-NAGEL non risponde e non è responsabile di danni o difetti prodottisi durante la spedizione e la movimentazione (esclusa l'assicurazione di trasporto per i clienti), oppure di incidenti o di utilizzo improprio o anomalo di questo prodotto, difetti di prodotti o componenti non fabbricati da MACHEREY-NAGEL, o danni derivanti da tali componenti o prodotti non MACHEREY-NAGEL.

MACHEREY-NAGEL non fornisce alcuna garanzia di altro genere, e **PIÙ SPECIFICAMENTE DECLINA ED ESCLUDE OGNI ALTRA GARANZIA DI QUALSIVOGLIA NATURA, ESPRESSA O IMPLICITA, COMPRESE, SENZA LIMITAZIONE, L'IDONEITÀ, RIPRODUCIBILITÀ, DURATA,**

IDONEITÀ A UN USO O FINE PARTICOLARE, COMMERCIALIZZABILITÀ, CONDIZIONE O QUALSIASI ALTRA QUESTIONE IN RIFERIMENTO AI PRODOTTI MACHEREY-NAGEL.

In nessun caso MACHEREY-NAGEL sarà ritenuta responsabile di rivendicazioni per altri danni diretti, indiretti, incidentali, compensatori, prevedibili, consequenziali o speciali (inclusi, ma non limitati a mancato uso, ricavo o guadagno), basati o meno su garanzia, contratto, illecito (inclusa la negligenza) o responsabilità incondizionata insorgente in relazione alla vendita o alle mancate prestazioni dei prodotti MACHEREY-NAGEL rispetto alle specifiche dichiarate. Questa garanzia è esclusiva e MACHEREY-NAGEL non si assume altre garanzie, esplicite o implicite.

La garanzia qui fornita e i dati, le specifiche e le descrizioni di questo prodotto MACHEREY-NAGEL che compaiono nei cataloghi pubblicati e nella letteratura sui prodotti MACHEREY-NAGEL rappresentano le uniche dichiarazioni di MACHEREY-NAGEL in relazione al prodotto e alla garanzia. Non sono autorizzate altre dichiarazioni o descrizioni, verbali o scritte, di dipendenti, agenti o rappresentanti di MACHEREY-NAGEL, eccettuate le dichiarazioni scritte firmate da un funzionario debitamente autorizzato di MACHEREY-NAGEL; il cliente non deve farvi affidamento e non fanno parte del contratto di vendita o di questa garanzia.

Le affermazioni sul prodotto sono soggette a variazioni. Si prega quindi di contattare il nostro Team di Assistenza Clienti per avere le informazioni più aggiornate sui prodotti MACHEREY-NAGEL. È anche possibile contattare il distributore locale per informazioni scientifiche generali. Le applicazioni menzionate nella letteratura MACHEREY-NAGEL sono fornite unicamente a scopo informativo. MACHEREY-NAGEL non garantisce che tutte le applicazioni siano state testate nei laboratori di MACHEREY-NAGEL usando prodotti MACHEREY-NAGEL. MACHEREY-NAGEL non garantisce la correttezza di tali applicazioni.

Ultimo aggiornamento: 09/2023, Rev. 01

Motivo della revisione: nuovo documento.

---

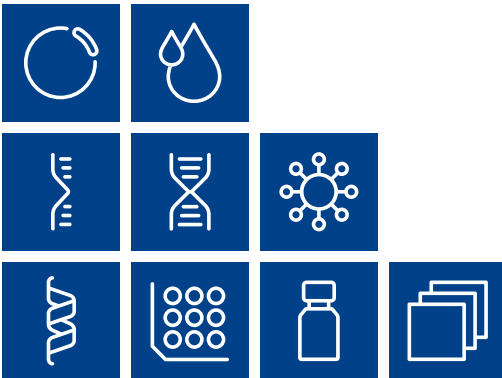
Marchi:

NucleoSpin® è un marchio commerciale di MACHEREY-NAGEL GmbH & Co KG Germania

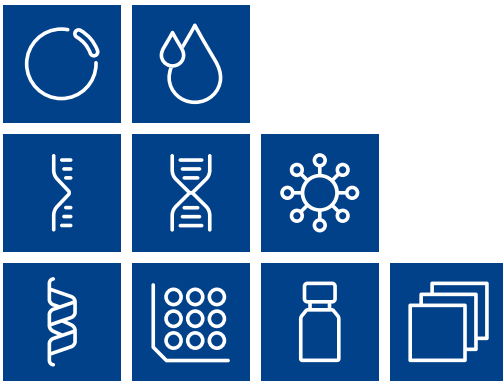
S-Monovette® è un marchio commerciale registrato di Sarstedt

Tutti i nomi e i simboli usati possono essere marchi, marchi commerciali o etichette registrate del rispettivo possessore, anche qualora non siano simboli speciali. La menzione di prodotti e marchi è solo un genere di informazione (ossia non è una violazione di marchi commerciali e marchi e non può essere considerata alla stregua di una raccomandazione o valutazione). In relazione a tali prodotti o servizi non possiamo concedere alcuna garanzia riguardante selezione, efficienza o funzionamento





Plasmid DNA  
Clean up  
RNA  
DNA  
Viral RNA and DNA  
Protein  
High throughput  
Accessories  
Auxiliary tools



A0xxxx065xx

[www.mn-net.com](http://www.mn-net.com)

**MACHEREY-NAGEL**



 <b>TÜV Rheinland</b> CERTIFIED	Management System EN ISO 13485:2016 ISO 9001:2015	
	<a href="http://www.tuv.com">www.tuv.com</a> ID 0000056401	

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienner Str. 11 · 52355 Düren · Germany

DE +49 24 21 969-0 [info@mn-net.com](mailto:info@mn-net.com)

CH +41 62 388 55 00 [sales-ch@mn-net.com](mailto:sales-ch@mn-net.com)

FR +33 388 68 22 68 [sales-fr@mn-net.com](mailto:sales-fr@mn-net.com)

US +1 888 321 62 24 [sales-us@mn-net.com](mailto:sales-us@mn-net.com)