Červenec 2024

Produktový list

QIAcuityDx® Universal MasterMix Kit

Verze 1

IVD

Pro diagnostiku in vitro

Pro laboratorní použití

CE

REF 260101, 260102

QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, NĚMECKO

R1 MAT 1134829CS

Sample to Insight

Obsah

Obsah sady 3
Doprava a skladování 4
Stabilita při používání 4
Účel použití 5
Účinné přísady 5
Symboly 6
Informace o bezpečnosti 8
Universal MasterMix 9
Informace pro případ nouze 9
Popis a principy 10
Poznámky před spuštěním 11
Postup 13
Likvidace 17
Kontrola kvality 18
Omezení 19
Řešení potíží 20
Informace o způsobu objednávání 23
Historie revizí dokumentu 24

Obsah sady

Cat. no. Kit	260101 1 mL	260102 5 mL
QIAcuityDx Universal MasterMix	1 × 1180 µL	5 × 1180 µL
$MgCl_2$, 200mM	1 × 1000 µL	2 × 1000 µL
RNase-free water	2 × 1,9 mL	5 × 1,9 mL

Doprava a skladování

Souprava QIAcuityDx Universal MasterMix Kit je dodávána na suchém ledu. Soupravu uložte ihned po dodání do mrazničky s konstantní teplotou −30 až −15 °C. Pokud není jakákoliv součást soupravy QIAcuityDx Universal MasterMix Kit při dodání zmrzlá, během přepravy došlo k otevření vnějšího obalu nebo zásilka neobsahuje balicí list nebo reagencie, obraťte se na oddělení technických služeb QIAGEN Technical Services nebo místní prodejce (navštivte stránky **www.qiagen.com**).

Při správném uchovávání zůstane souprava QIAcuityDx Universal MasterMix Kit stabilní až do data exspirace uvedeného na štítku.

Pufr nepoužívejte, pokud je skladován mimo specifikace, pokud byl obal poškozen nebo pokud jsou viditelné jiné známky znehodnocení či nesprávné funkce.

Stabilita při používání

Po otevření lze reagencie skladovat v původních obalech při teplotě −30 až −15 °C až do data exspirace uvedeného na obalu. Soupravu opakovaně nerozmrazujte a nezmrazujte. Nepřekračujte maximální počet pěti cyklů zmrazení/rozmrazení.

Reagencie smí být zcela rozmraženy při pokojové teplotě (15 až 25 °C) nejvýše po dobu 30 minut před použitím.

Účel použití

Souprava QIAcuityDx Universal MasterMix Kit je sada reagencií dPCR master mix připravená k okamžitému použití se zařízením QIAcuityDx Four spolu s reagenciemi určenými pro danou analýzu v rámci validovaných diagnostických testovacích postupů.

Souprava QIAcuityDx Universal MasterMix Kit není automatizovaným zařízením a je určena k použití vyškoleným personálem v laboratoři.

Souprava QIAcuityDx Universal MasterMix Kit je určena pro diagnostiku *in vitro*.

Každý uživatel je zodpovědný za validaci funkčnosti systémů u všech postupů používaných v dané laboratoři, které nejsou zahrnuty ve studiích funkčnosti výrobků QIAGEN.

Účinné přísady

Reagencie	Název	Účinná přísada	Koncentrace (% hm./hm.)
Master mix	QIAcuityDx Universal MasterMix	QuantiNova® DNA Polymerase (DNA polymeráza QuantiNova®) (5,6 U/µl)	12 %
		dNTP Mix (10 mM každý)	10 %
Chlorid hořečnatý	$MgCl_2$, 200 mM	Žádná	–
Voda	RNase-free water (Voda bez RNázy)	Žádná	–

Symboly

V návodu k použití anebo na obalu a značení se mohou objevit následující symboly:

CE	Tento výrobek splňuje požadavky evropského nařízení (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro (IVDR).
IVD	Zdravotnický prostředek pro diagnostiku *in vitro*
REF	Katalogové číslo
MAT	Číslo materiálu
LOT	Číslo šarže
GTIN	Globální číslo obchodní položky
UDI	Jedinečný identifikátor zařízení
CONT	Obsahuje
COMP	Komponenta
NUM	Číslo
	Datum výroby
Rn	R označuje revizi produktového listu a n je číslo revize
Vn	V označuje verzi produktového listu a n je číslo verze
	Datum spotřeby

Teplotní omezení

Zákonný výrobce

Prostudujte si návod k použití

Obsahuje dostatek reagencií pro <N> reakcí

Chraňte před světlem

Varování

Ohrožení zdraví

Informace o bezpečnosti

Při manipulaci s chemikáliemi noste vždy laboratorní oděv, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Bližší informace jsou uvedeny v příslušných bezpečnostních listech (BL). Bezpečnostní listy jsou k dispozici online v praktickém a kompaktním formátu PDF na webových stránkách **www.qiagen.com/safety**, kde můžete nalézt, zobrazit a vytisknout BL pro každou soupravu QIAGEN® i pro každou součást těchto souprav.

Vezměte prosím na vědomí, že podle místních předpisů od vás může být vyžadováno nahlášení závažných událostí, ke kterým došlo v souvislosti se zařízením, a to výrobci a regulačnímu orgánu, pod nějž uživatel a/nebo pacient spadá.

Vzorky a alikvoty jsou potenciálně infekční. Alikvoty a odpad z analýzy zlikvidujte v souladu s místními bezpečnostními předpisy.

Souprava QIAcuityDx Universal MasterMix Kit obsahuje DNA polymerázu QuantiNova, která se vyrábí procesem bakteriální fermentace. Enzym je na konci zpracování purifikován z mikrobů, aby se odstranil jakýkoli zbytkový zdroj potenciálně infekčního materiálu.

Universal MasterMix

Obsahuje: 2-methylisothiazol-3(2H)-one; 1,2,4-triazol. Může vyvolat alergickou kožní reakci. Může poškodit plodnost nebo nenarozené dítě. Před použitím získejte zvláštní pokyny. S produktem nemanipulujte, dokud si nepřečtete všechna bezpečnostní opatření a neporozumíte jim. Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít. Pokud dojde k zasažení nebo důvodné obavě, že došlo k zasažení: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření. Skladujte v uzamčené místnosti. Obsah/nádobu likvidujte ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.

Informace pro případ nouze

CHEMTREC

USA a Kanada: 1-800-424-9300

Mimo USA a Kanadu: +1 703-527-3887

Popis a principy

Souprava QIAcuityDx Universal MasterMix Kit obsahuje dPCR master mix k okamžitému použití obsahující reakční chemikálie v PCR pufru, patentované referenční barvivo a samostatné zkumavky s 200 mM chloridu hořečnatého ($MgCl_2$) 100 % hm/hm a s vodou bez RNázy 100 % hm/hm.

Úplný seznam materiálů, které se mají použít se soupravou QIAcuityDx Universal MasterMix Kit, naleznete v *uživatelské příručce systému QIAcuityDx System*.

Tento protokol je optimalizován pro kvantifikaci cílů DNA nebo cDNA pomocí soupravy QIAcuityDx Universal MasterMix Kit se sondami TaqMan® v singleplexové nebo multiplexové reakci s využitím systému QIAcuityDx System.

Poznámky před spuštěním

- Fluorescenční barvivo je součástí soupravy QIAcuityDx Universal MasterMix Kit pro spolehlivou detekci správného vyplnění přepážek v destičkách nanoplates kompatibilních s QIAcuityDx.
- Pro nejvyšší účinnost analýzy dPCR s použitím sond TaqMan by amplikony měly mít ideální délku 60–150 bp. Podobně jako u qPCR lze používat i delší amplikony, což ale může ohrozit výkon analýzy.
- Před prováděním multiplexních analýz zvolte vhodné kombinace oznamovacích barviv a zhášečů, které jsou kompatibilní s multiplexními analýzami pomocí detekční optiky přístroje QIAcuityDx Four (viz. Tabulka 1).

  Důležité: Na snímky generované přístrojem QIAcuityDx Four se aplikuje integrovaná korekce přechodu luminiscence. Tato korekce má minimalizovat účinky spektrálního překrývání mezi sousedními optickými kanály a fluorofory. Použití nepodporovaných barviv může vést k suboptimální korekci přechodu luminiscence.

Tabulka 1. Optické kanály a podporované fluorofory pro přístroj QIAcuityDx Four

Kanál	Excitace (nm)	Emise (nm)	Podporované fluorofory
Green	463–503	518–548	FAM™
Yellow	514–535	550–564	HEX™
Orange	543–565	580–606	TAMRA™
Red	570–596	611–653	ROX™
Crimson	590–640	654–692	Cy5®

- S každou sondou by měly být použity nefluorescenční zhášeče. Dvojitě zhášené sondy mohou při určitých analýzách zlepšovat poměr signálu k šumu.

- Vývoj analýzy doporučujeme zahajovat s podmínkami cyklování a koncentracemi primerů specifikovanými v tomto protokolu. Podmínky cyklování PCR musí začít počátečním inkubačním krokem 2 minuty při teplotě 95 °C, aby se aktivovala DNA polymeráza QuantiNova v soupravě QIAcuityDx Universal MasterMix Kit.
- Pro snadné použití doporučujeme pro každý z cílů připravit 10× nebo vyšší koncentraci směsi primer-probe obsahující primery a sondu specifické pro daný cíl. Směs 10× primer-sonda se skládá z 1–8 µM přímého primeru, 1–8 µM zpětného primeru a 0,5–4 µM sondy v TE pufru s nízkou EDTA (0,1 mM).
- DNA templát s průměrnou délkou > 30 kb bude možná nutné před rozdělením fragmentovat restrikčním štěpením. Enzymatická fragmentace větší DNA zajišťuje rovnoměrnou distribuci templátu v nanodestičce kompatibilní s QIAcuityDx, což zase zajišťuje přesnou a precizní kvantifikaci. Restrikční štěpení není vyžadováno pro vysoce fragmentovanou DNA (např. FFPE DNA nebo cirkulující DNA) nebo cDNA. Je třeba věnovat pozornost použití enzymů, které nebudou způsobovat štěpení v amplifikované sekvenci, proto se doporučuje použití restrikčních enzymů.
- Vstupní množství vzorků by mělo být založeno na počtu přepážek v nanodestičkách, s horním limitem 5 kopií na oddíl při použití detekce založené na sondě TaqMan (Tabulka 2). Ideální rozsah počtu kopií na přepážku je mezi 0,5–3. Pokud nelze počet kopií určit před zahájením experimentu, doporučuje se provést počáteční titrační experiment k určení optimálního vstupního množství vzorku.

Tabulka 2. Maximální počet kopií na reakci na typ destičky

Typ destičky	Počet přepážek	Horní limit kopií na reakci	Analyzovaný objem (µl)	Celkový reakční objem (µl)	Max. počet kopií na analyzovaný objem	Odhadovaný max. počet kopií na reakci
8,5 tis. nanodestiček	8 500	5	2,9	13	42 500	170 000
26 tis. nanodestiček	26 000	5	24,0	42	130 000	217 000

Postup

1. QIAcuityDx Universal MasterMix, chlorid hořečnatý, templátová DNA nebo cDNA, směs primer-sonda a voda bez RNázy smí být rozmrazeny při pokojové teplotě po dobu maximálně 30 minut.
2. Míchejte každý z roztoků vortexováním při plné rychlosti po dobu 3–5 sekund. Zkumavky by měly být po smíchání krátce odstředěny, aby se kapaliny shromáždily na dně zkumavek.
3. Připravte hlavní směs analýzy pro požadovaný počet reakcí dle Tabulky 3, mínus templát / kontrola bez templátu (NTC). Během přípravy reakce nebo následných kroků není nutné uchovávat vzorky na ledu.

Tabulka 3. Doporučené nastavení master mixu pro analýzu

Komponenta	Objem/jamka (24/96jamkové, 8,5 tis. nanodesticek)	Objem/jamka (24jamkové, 26 tis. nanodesticek)	Konečná koncentrace
QIAcuityDx Universal MasterMix	3,3 µl	11 µl	1×
$MgCl_2$, 200 mM	0,41 µl*	1,38 µl*	6,28 mM*
10× směs primer-sonda (na analýzu)†	1,32 µl†	4,4 µl†	0,1–0,8 µM přímý primer 0,1–0,8 µM zpětný primer 0,05–0,4µM sonda
Restrikční enzym (volitelně)	Až 1 µl	Až 1 µl	0,025–0,25 U/µl
RNase-free water (Voda bez RNázy)	Proměnlivý	Proměnlivý	
DNA templátu nebo cDNA (přidáno v kroku 5)	Proměnlivý‡	Proměnlivý‡	
Celkem	**13,2 µl**	**44 µl**	

*Doporučená počáteční koncentrace, objem se může lišit v závislosti na optimalizaci.

†Objem se může lišit v závislosti na koncentraci použité směsi primer-sonda a konečné cílové koncentraci.

‡Vhodné množství templátu závisí na různých parametrech, viz poznámky před zahájením.

4. Míchejte master mix vortexováním při plné rychlosti po dobu 3–5 sekund. Krátce centrifugujte.

5. Do jamek standardní PCR destičky nebo zkumavek lo-bind nadávkujte příslušné objemy master mixu analýzy, který obsahuje všechny složky kromě templátu / kontroly bez templátu (NTC). Poté přidejte templátovou DNA/NTC do každé jamky/zkumavky v objemu vhodném pro vaši analýzu (viz poznámky před zahájením).

   Poznámka: U 2-krokové RT-PCR by objem přidané cDNA (z neředěné reverzní transkripční reakce) neměl překročit 15 % konečného objemu PCR.

6. Smíchejte dílčí směs (master mix analýzy a templátu) buď v PCR destičce pipetováním v jamce 10krát nahoru a dolů, nebo, pokud se míchá ve zkumavce, vortexováním při plné rychlosti po dobu 3–5 sekund. Destičku/zkumavku krátce centrifugujte, aby se shromáždila kapalina na dně jamky/zkumavky.

7. Obsah každé jamky/zkumavky přeneste okamžitě do jamky nanodestičky.

   Poznámka: Zajistěte, aby se během přenosu na nanodestičku nevytvářely vzduchové bubliny tím, že budete pipetovat až k první zarážce. Ujistěte se, že směs pipetujete do vstupní jamky a nikoli do výstupní jamky. Abyste zabránili poškození optického povrchu a snížili množství prachu, který bude rušit zobrazování a analýzu výsledků, doporučujeme před pipetováním reakční směsi do nanodestičky umístit nanodestičku do podnosu na nanodestičky. Podnos s nanodestičkami by měl být před použitím předem vyčištěn hadříkem, který nepouští vlákna.

8. Nanodestičky řádně utěsněte pomocí těsnění nanodestiček, které je součástí soupravy s destičkami.

   Poznámka: Přesný postup utěsnění naleznete *v uživatelské příručce systému QIAcuityDx System.*

9. Pokud byl do reakce zahrnut restrikční enzym pro štěpení DNA, nechejte destičku odstát 10 minut při pokojové teplotě.

10. Naprogramujte cyklovač přístroje QIAcuityDx Four podle Tabulky 4.

Tabulka 4. Doporučené podmínky cyklování dPCR

Krok	Čas	Teplota (°C)	Počet cyklů
Počáteční tepelná aktivace PCR	2 min.	95	1
Denaturace	15 s	95	40*
Kombinovaná hybridizace/prodlužování*	30 s*	60	

*Teplota / čas / počet cyklů se mohou lišit v závislosti na typu analýzy

11. Umístěte nanodestičku do přístroje QIAcuityDx Four a spusťte program dPCR podle *uživatelské příručky systému QIAcuityDx System.*

Likvidace

Použitý i nepoužitý produkt zlikvidujte v souladu s místními a národními předpisy. Dodržujte doporučení uvedená v bezpečnostním listu (BL).

Kontrola kvality

V souladu se systémem managementu jakosti společnosti QIAGEN certifikovaným podle norem ISO byla každá šarže soupravy QIAcuityDx Universal MasterMix Kit testována podle předem stanovených specifikací, aby byla zaručena jednotná kvalita produktu.

Omezení

Výkon soupravy QIAcuityDx Universal MasterMix Kit byl stanoven s využitím příslušných následných analýz QIAGEN. Podrobné pokyny pro zacházení s tímto produktem v rámci příslušného pracovního postupu naleznete v příslušném návodu k použití příslušné navazující aplikace QIAGEN.

Za validaci funkčních vlastností systémů u všech analýz používaných v dané laboratoři, které nejsou zahrnuty ve studiích funkčních vlastností výrobků QIAGEN, zodpovídá uživatel. Pro minimalizaci rizika negativního dopadu na diagnostické výsledky je zapotřebí používat pro aplikace v dalších stupních analýzy odpovídající kontroly. Pro další validaci se doporučují pokyny *Mezinárodní konference o harmonizaci technických požadavků (International Conference on Harmonization of Technical Requirements, ICH) uvedené v dokumentu ICH Q2(R1) „Validation Of Analytical Procedures:* Doporučuje se: *Text And Methodology (Text a metodologie)*.

Souprava QIAcuityDx Universal MasterMix Kit se nevyrábí za sterilních výrobních postupů, proto může obsahovat další přísady, které by mohly ovlivnit měření. Aplikace v dalších stupních by měly zahrnovat odpovídající kontroly, pokud se při nich zvyšuje riziko negativního dopadu na výsledek diagnostiky.

Řešení potíží

Tato část poskytuje informace o tom, co dělat v případě problémů s používáním soupravy QIAcuityDx Universal MasterMix Kit. Pokud budete potřebovat další pomoc, obraťte se na oddělení technických služeb společnosti QIAGEN za použití níže uvedených kontaktních údajů. Díky nim se dostanete ke kontaktním údajům pro vaši zemi:

Web: **support.qiagen.com**

Závada	Komentáře a návrhy
Amplifikace NTC	
Design analýzy	Přepracujte design primerů/sond. Optimalizujte podmínky analýzy změnou koncentrace primerové sondy a koncentrace $MgCl_2$.
Kontaminace v reagenciích	Zlikvidujte reagencie, opakujte analýzu s použitím nových reagencií.
Kontaminace při přípravě analýzy.	Přijměte opatření proti kontaminaci dekontaminací pracovního prostoru pomocí vhodných čisticích prostředků.
Žádná amplifikace	
Podmínky PCR nejsou optimalizovány	Zvyšte počáteční čas denaturace. Zvyšte dobu hybridizace/prodlužování.
Nedostatečný počáteční templát	Zvyšte množství/koncentraci výchozího templátu přidaného do hlavní směsi analýzy.
Příznak nasycení	
Přesycení sond	Zkraťte čas expozice v parametrech zobrazování. Snižte zesílení v parametrech zobrazování.
Nedostatečné oddělení mezi pozitivními a negativními shluky	
Design analýzy	Optimalizujte podmínky analýzy změnou koncentrace primerové sondy a koncentrace $MgCl_2$. Přejděte na dvojitě zhášené sondy TaqMan, abyste zvýšili odstup signálu od šumu.
Podmínky PCR nejsou optimalizovány	Zvyšte počáteční čas denaturace. Zvyšte dobu hybridizace/prodlužování.
Rozdíly pozorované v absolutních hodnotách kvantifikace mezi běhy	
Nedostatečné množství produktu QIAcuityDx Universal MasterMix	Ujistěte se, že konečná koncentrace produktu QIAcuityDx Universal MasterMix v submixu je 1× (ze 4× zásobního roztoku).
Změny v době rozmrazování/přípravy	Delší doby rozmrazování/přípravy mohou negativně ovlivnit absolutní hodnoty kvantifikace. Pro optimální výkon by reagencie měly být rozmraženy po dobu maximálně 30 minut a jakmile bude submix (hlavní směs analýzy + templátu) připraven, měl by být okamžitě vložen na nanodestičku. Pokud bude nutné využít delší dobu rozmrazování/přípravy, mělo by být využito ochranné pásmo u jednotlivých analýz tak, aby jakékoli změny v absolutní kvantifikaci neovlivnily konečné výsledky.
Podmínky PCR nejsou optimalizovány	Optimalizujte teplotu denaturace. Optimalizujte teplotu hybridizace/prodlužování.

Závada	Komentáře a návrhy
Nekonzistentní výsledky mezi jamkami nanodesiček	
Podmínky PCR nejsou optimalizovány	Optimalizujte dobu aktivace zvýšením ze 2 minut na 15 minut.

Informace o způsobu objednávání

Produkt	Obsah	Kat. č.
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (1 mL)	Pro přípravu až čtyř nanodestiček QIAcuityDx Nanoplate: 1× QIAcuityDx Universal MasterMix, 1× $MgCl_2$, 200 mM, 2× RNase-free water (Voda bez RNázy)	260101
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (5 mL)	Pro přípravu až dvaceti nanodestiček QIAcuityDx Nanoplate: 5× QIAcuityDx Universal MasterMix, 2× $MgCl_2$, 200 mM, 5× RNase-free water (Voda bez RNázy)	260102

Zacházení s výrobky je třeba věnovat potřebnou péči a pozornost. Všem uživatelům produktů QIAGEN® doporučujeme, aby se řídili všemi platnými místními předpisy, a také doporučujeme dodržovat všechny platné normy a směrnice.

Historie revizí dokumentu

Datum	Změny
R1, červenec 2024	První vydání

Smlouva o omezené licenci na soupravu QIAcuityDx® Universal MasterMix Kit

Používáním tohoto produktu vyjadřuje každý kupující nebo uživatel produktu svůj souhlas s následujícími podmínkami:

1. Tento produkt se může používat výhradně v souladu s protokoly poskytnutými s tímto produktem a tímto návodem k použití a pro použití pouze s komponentami dodanými v tomto panelu. Společnost QIAGEN neposkytuje žádnou licenci svých duševních práv k používání nebo začlenění komponent, které jsou obsaženy v tomto panelu, společně s kterýmikoliv komponentami, které v tomto panelu obsaženy nejsou, s výjimkou případů popsaných v tomto návodu k použití a dalších protokolech dostupných na webových stránkách www.qiagen.com. Některé z těchto dalších protokolů byly poskytnuty uživateli QIAGEN dalším uživatelům QIAGEN. Tyto protokoly nebyly společností QIAGEN důkladně testovány ani optimalizovány. Společnost QIAGEN nezaručuje ani neposkytuje záruku na to, že neporušují práva třetích stran.
2. Společnost QIAGEN neposkytuje žádnou jinou záruku než výslovně stanovené licence v tom smyslu, že tento panel a/nebo jeho použití nenarušuje práva třetích stran.
3. Tento panel a jeho komponenty jsou licencovány k jednorázovému použití a nesmí se používat opakovaně, přepracovávat ani opakovaně prodávat.
4. Společnost QIAGEN specificky odmítá jakékoliv další výslovné nebo nepřímé licence s výjimkou těch, které jsou uvedeny výslovně.
5. Kupující a uživatel tohoto panelu souhlasí s tím, že nepodnikne ani nikomu jinému neumožní podniknout žádné kroky, které by mohly vést k jakékoliv shora zakázané činnosti nebo ji usnadnily. Společnost QIAGEN může prosazovat zákazy tohoto ujednání o omezené licenci u kteréhokoliv soudu, a bude vyžadovat kompenzaci za veškeré náklady vynaložené na vyšetřování a soudní výlohy včetně poplatků za právní zástupce v případě jakéhokoliv soudního sporu s cílem prosadit toto ujednání o omezené licenci nebo kteréhokoliv ze svých práv k duševnímu vlastnictví v souvislosti s panelem a/nebo jeho součástmi.

Aktualizovaná licenční ustanovení jsou k dispozici na webových stránkách **www.qiagen.com**.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAcuityDx®, QuantiNova® (QIAGEN Group); Cy® (GE Healthcare); Taqman® (Roche Molecular Systems, Inc.); FAM™, HEX™, ROX™, TAMRA™, (Thermo Fisher Scientific nebo její dceřiné společnosti). Registrované názvy, ochranné známky atd. použité v tomto dokumentu, i když nejsou výslovně takto označeny, nelze považovat za nechráněné zákonem.

07/2024 HB-3592-001 © 2024 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

Tato stránka je úmyslně ponechána prázdná.

Tato stránka je úmyslně ponechána prázdná.

Tato stránka je úmyslně ponechána prázdná