



2024 年 7 月

プロダクトシート

QIAcuityDx® Universal MasterMix Kit

バージョン 1

IVD

体外診断用医薬品

研究室用

試
機



REF

260101、260102



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ドイツ

R1

MAT

1134829JA

目次

キットの内容物	3
発送と保管	4
使用時の安定性	4
使用目的	5
活性成分	5
図記号	6
安全情報	8
ユニバーサルマスターミックス	9
緊急時の連絡先	9
説明と原理	10
開始前の注意	11
手順	14
廃棄	18
品質管理	19
制限事項	20
トラブルシューティング	21
発注情報	24
文書変更履歴	25

キットの内容物

カタログ番号 キット	260101 1 mL	260102 5 mL
QIAcuityDx Universal MasterMix	1 x 1180 μ l	5 x 1180 μ l
塩化マグネシウム、200mM	1 x 1000 μ l	2 x 1000 μ l
RNaseフリー水	2 x 1.9 mL	5 x 1.9 mL

宝
機

発送と保管

QIAcuityDx Universal MasterMix Kitはドライアイスで梱包して発送されます。受領後直ちに恒温冷凍庫に入れ、 -30 から -15°C の温度で保管してください。QIAcuityDx Universal MasterMix Kitの構成品のいずれかが引き渡し時に凍結していなかった場合や輸送中に外装が開封されていた場合、または、積荷に梱包指示書あるいは試薬が含まれていなかった場合には、QIAGENテクニカルサービスまたは最寄りの販売代理店にお問い合わせください (www.qiagen.comを参照)。

正しく保管すれば、QIAcuityDx Universal MasterMix Kitはラベルに印刷されている使用期限まで安定しています。

仕様に従って保管されていない場合、包装が破損している場合、またはその他の劣化や不具合の兆候が見られる場合は使用しないでください。

使用時の安定性

開封後も、試薬は元の包装のまま -30 から -15°C で、包装に記載の使用期限まで保管できます。融解と凍結を繰り返さないようにしてください。凍結融解サイクルは最大5回までにしてください。

試薬は使用前に室温 ($15\sim 25^{\circ}\text{C}$) で最大30分間完全に解凍する必要があります。

使用目的

QIAcuityDx Universal MasterMix Kitは、検証済みの診断テスト手順の一部として、QIAcuityDx Four 機器ですぐに使用できる汎用dPCR マスターミックス試薬セットです。関連するアッセイ固有の試薬と組み合わせて使用します。

QIAcuityDx Universal MasterMix Kitは自動化されたデバイスではなく、訓練を受けたスタッフによる研究室での使用を目的としています。

QIAcuityDx Universal MasterMix Kitは、体外診断用です。
















研究室で使用されるQIAGENの性能評価試験の対象外の操作手順については、システム性能を検証する責任はユーザーにあります。

活性成分

試薬	名称	活性成分	濃度 (w/w%)
マスターミックス	QIAcuityDx Universal MasterMix	QuantiNova® DNA Polymerase (5.6 U/μL)	12%
		dNTP Mix (各 10 mM)	10%
塩化マグネシウム	塩化マグネシウム、200mM	なし	-
水	RNaseフリー水	なし	-

図記号

使用説明書やパッケージとラベルには、次の図記号が表示されます。

	この製品は、体外診断用医療機器（IVDR）に関する欧州規則（EU）2017/746 の要求事項に準拠しています。
	体外診断用医療機器
	カタログ番号
	材料番号
	ロット番号
	グローバルトレードアイテム番号
	固有のデバイス識別子
	含有物質
	コンポーネント
	番号
	製造日
	Rはプロダクトシートの改訂を示し、nは改訂番号を示す
	Vはプロダクトシートのバージョンを示し、nはバージョン番号を示す
	使用期限
	温度制限

体外
診断
機器



法的製造業者



製品説明書を参照



<N>

<N>回の反応に必要な試薬が含まれています



遮光してください



警告



健康有害性

試
機

安全情報

薬品を取り扱う際は、必ず適切な白衣を着用し、使い捨ての手袋と保護メガネを装着してください。詳細は、適切な安全データシート（Safety Data Sheets、SDS）を参照してください。これらは、便利でコンパクトなPDF形式によりオンラインで入手可能です（www.qiagen.com/safety）。各QIAGEN®キットおよびキットコンポーネントのSDSを検索、表示、印刷できます。

デバイスに関連して発生した重大なインシデントを、製造者およびユーザーや患者を規定する規制当局に報告する場合は、地域の規制を参照するべき場合があることにご注意ください。

検体やサンプルには潜在的に感染性があります。サンプルとアッセイの廃棄物は、地域の安全手順に従って廃棄してください。

QIAcuityDx Universal MasterMix Kitには、細菌発酵プロセスによって産生されるQuantiNova DNAポリメラーゼが含まれています。酵素は加工の最後に微生物から精製され、感染の可能性がある残留物質が除去されます。

ユニバーサルマスターミックス



含有物質：2-メチルイソチアゾール-3(2H)-オン；1,2,4-トリアゾール。皮膚のアレルギー反応の原因となる可能性があります。生殖能力や胎児に悪影響を与える可能性があります。使用前に特別な指示を入手してください。すべての安全上の注意事項を読んで理解するまで取り扱わないでください。防護用手袋、防護服、目および顔面の保護具を使用してください。曝露、または曝露の懸念がある場合：医師の診察を受けてください。鍵のかかる場所で施錠して保管する。内容物、容器は承認された廃棄物処理装置または廃棄物処理工場へ廃棄してください。

緊急時の連絡先

CHEMTREC

米国およびカナダ：1-800-424-9300

米国およびカナダ以外の国：+1 703-527-3887

日
機

説明と原理

QIAcuityDx Universal MasterMix Kitは、PCRバッファーと独自の参照色素に反応化学物質を含むすぐに使用できるdPCRマスターミックスと、各チューブ入りの200mM塩化マグネシウム (MgCl₂) 100% w/w および RNase フリー水 100% w/wで構成されています。

Universal MasterMix Kitとともに使用する材料の完全なリストは、QIAcuityDxシステムの製品説明書に記載されています。

このプロトコールは、QIAcuityDxシステムを使用したシングルプレックスまたはマルチプレックス反応における、TaqMan®プローブを使ったQIAcuityDx Universal MasterMix KitによるDNAまたはcDNAターゲットの定量を目的として最適化されています。

QIA
GENE

開始前の注意

- QIAcuityDx互換ナノプレート内の適切なパーティション充填を確実に検出するために、QIAcuityDx Universal MasterMix Kitのコンポーネントとして蛍光染料を同梱しています。
- TaqManプローブを使用するdPCR アッセイで最大の効率を得るには、アンプリコンの長さは理想的には 60~150 bpである必要があります。qPCRと同様に、より長いアンプリコンも使用できますが、アッセイのパフォーマンスが低下する可能性があります。
- マルチプレックス解析を行う前に、QIAcuityDx Four装置の検出光学系を使用して、マルチプレックス解析と互換性のあるレポーター染料とクエンチャーの適切な組み合わせを選択してください（表 1）。

重要：QIAcuityDx Four装置によって生成された画像には、統合されたクロストーク補正が適用されます。この補正は、隣接する光学チャネルと蛍光色素間のスペクトルの重なりの影響を最小限に抑えるためのものです。サポートされていない染料を使用すると、クロストーク補正が最適に行われない可能性があります。

表 1. QIAcuityDx Four機器用の光学チャネルとサポートされている蛍光色素

チャンネル	励起波長 (nm)	発光波長 (nm)	サポートされている蛍光色素
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®

- 各プローブには非蛍光性クエンチャーを使用する必要があります。ダブルクエンチャープローブは、特定のアッセイにおける信号対雑音比を改善するために利用される場合があります。
- このプロトコールで指定されたサイクリング条件とプライマー濃度でアッセイ開発を開始することをお勧めします。PCRサイクリング条件は、QIAcuityDx Universal MasterMixキットのQuantifiNova DNAポリメラーゼを活性化するために、95°Cで 2 分間の初期インキュベーションステップから開始する必要があります。
- 使いやすさを考慮して、各ターゲットにターゲット固有のプライマーとプローブを含む 10 倍以上の濃度のプライマープローブミックスを調製することをお勧めします。10 倍プライマープローブミックスは、低EDTA (0.1 mM) を含むTEバッファー中の 1~8 μM フォワードプライマー、1~8 μM リバースプライマー、および0.5~4 μM プローブで構成されます。
- 平均長さが 30 kbを超えるDNAテンプレートは、分割する前に制限消化によって断片化する必要がある場合があります。大容量のDNAを酵素断片化することにより、QIAcuityDx対応ナノプレート全体にテンプレートが均一に配分され、正確かつ高精度な定量が確保されます。高度に断片化されたDNA (FFPE DNAや循環 (セルフリー) DNA) またはcDNAについては、制限消化は不要です。増幅された配列内で切断しない酵素を使用するように注意する必要があるため、制限酵素の使用が推奨されます。
- サンプル入力量はナノプレートのパーティション数に基づいて決定する必要があります。TaqManプローブベースの検出を使用する場合は、パーティションあたり 5 コピーが上限となります。(表 2)。コピー/パーティションの理想的な範囲は 0.5 ~ 3 です。実験開始前にコピー数を決定できない場合は、最適なサンプル入力量を決定するために初期滴定実験を実行することをお勧めします。



表 2. プレートタイプごとの反応あたりの最大コピー数

プレートタイプ	パーティション数	反応あたりのコピー数上限	解析量 (µL)	総反応量	解析量あたりの最大コピー数	反応あたりの推定最大コピー数
8.5k ナノプレート	8500	5	2.9	13	42,500	170,000
26k ナノプレート	26,000	5	24.0	42	130,000	217,000

白
機

手順

1. QIAcuityDx Universal MasterMix、塩化マグネシウム、テンプレートDNAまたはcDNA、プライマープローブミックス、RNaseフリー水を室温で最大 30 分間解凍します。
2. 各溶液を 3~5 秒間、最高速度でボルテックスして混合します。混合後、チューブを短時間遠心分離して、チューブの底に液体を集めます。
3. 必要反応数に応じたアッセイマスターミックスを表 3 に従って調整し、テンプレート/ノーテンプレートコントロール (NTC) を差し引きます。反応のセットアップ中やその後のステップ中にサンプルを氷上に置いておく必要はありません。

QIAcuityDx
Universal MasterMix
Kit

表 3.推奨されるアッセイマスターミックスのセットアップ

コンポーネント	容量/ウェル (24/96 ウェル、 8.5kナノプレート)	容量/ウェル (24 ウェル、 26kナノプレート)	最終濃度
QIAcuityDx Universal MasterMix	3.3 μL	11 μL	1x
塩化マグネシウム、 200mM	0.41 μL *	1.38 μL *	6.28 mM*
10 倍プライマープローブ ミックス（アッセイあたり） †	1.32 μL †	4.4 μL †	0.1~0.8 μM フォワード プライマー 0.1~0.8 μM リバース プライマー 0.05~0.4 μM プローブ
制限酵素 (オプション)	最大 1 μL	最大 1 μL	0.025~0.25 U/ μL
RNaseフリー水	変更可	変更可	
テンプレートDNAまたは cDNA（手順 5 で添加）	変更可‡	変更可‡	
合計	13.2 μL	44 μL	

*推奨される開始濃度、容量は最適化に応じて変わる場合があります。

†使用されるプライマープローブミックスの濃度と最終ターゲット濃度に応じて、容量は異なる場合があります。

‡適切なテンプレートの量はさまざまなパラメータによって異なります。開始する前に注意事項を参照してください。

4. マスターミックスを最高速度で 3~5 秒間ボルテックスして混合します。軽く遠心分離機にかけます。
5. テンプレート/ノーテンプレートコントロール（NTC）以外のすべてのコンポーネントを含むアッセイマスターミックスの適切な量を標準PCRプレートまたはローバインドチューブのウェルに分注します。次に、各ウェル/チューブに、アッセイに適した量のテンプレートDNA/NTCを加えます（始める前の注意事項を参照）。

注釈：2 ステップRT-PCRの場合、追加するcDNAの量（希釈されていない逆転写反応からは、最終的なPCR量の 15%を超えてはなりません）。

- PCRプレートのウェル内でピペティングで10回上下させてサブミックス（アッセイマスターミックスとテンプレート）を混合するか、チューブ内で混合する場合は、最高速度で3～5秒間ボルテックスして混合します。プレート/チューブを軽く遠く分離して、ウェル/チューブの底にある液体を集めます。
- 各ウェル/チューブの内容物をすぐにナノプレートのウェルに移します。

注釈：最初のストップまでピペティングして、ナノプレートへの移動中に気泡が発生しないことを確認します。混合物をピペットで、出力ウェルではなく入力ウェルに移すようにしてください。光学表面の損傷を防ぎ、画像化と結果の解析を妨げるほこりを減らすために、反応ミックスをナノプレートにピペットで移す前に、ナノプレートをナノプレートトレイに置くことをお勧めします。ナノプレートトレイは、使用前にリントフリーのティッシュで事前に洗浄しておく必要があります。

- プレートキットに付属のナノプレートシールを使用して、ナノプレートを適切に密封します。

注釈：正確なシール手順については、QIAcuityDxシステムユーザーマニュアルを参照してください。

- 反応にDNA消化用の制限酵素が含まれている場合は、プレートを室温で10分間放置します。
- QIAcuityDx Four装置のサイクラーを表4に従ってプログラムします。

表 4. 推奨されるdPCRサイクリング条件

ステップ	時間	温度 (°C)	サイクル数
PCR初期加熱活性化	2分	95	1
変性	15秒	95	40*
アニーリング/伸長の結合*	30秒*	60	

*温度/時間/サイクル数はアッセイの種類によって異なる場合があります

11. ナノプレートをQIAcuityDxFour装置にセットし、QIAcuityDxシステムユーザーマニュアルに従ってdPCRプログラムを開始します。

白
機

廃棄

使用済みおよび未使用の製品は、現地および国の規制に従って廃棄してください。安全データシート（SDS）の推奨事項に従ってください。

住
機
株

品質管理

QIAGENのISO認定品質管理システムに従い、既定の仕様に照らし合わせて QIAcuityDx Universal MasterMix Kiの各ロットの検査が行われ、製品の一貫した品質が保証されています。

品質
管理

制限事項

QIAcuityDx Universal MasterMix Kitのパフォーマンスは、適用可能なダウストリームのQIAGENアッセイにより確立されています。対応するワークフロー内でこの製品を取り扱う詳細な手順については、それぞれのQIAGENダウストリームアプリケーションの使用説明書を参照してください。

ラボで使用されるQIAGENの性能試験の対象外のアッセイについて、システム性能を検証する責任はユーザーにあります。診断結果に悪影響が及ぶリスクを最小限に抑えるため、ダウストリームアプリケーションを適切に管理する必要があります。さらなる検証には、*分析手順のICH Q2 (R1) バリデーションにおける医薬品規制調和国際会議 (ICH) のガイドライン：Text and Methodology* (分析手順のバリデーション：テキストと方法) が推奨されます。

QIAcuityDx Universal MasterMix Kitは滅菌製造手順で製造されていないため、測定に影響を与える可能性のある他の成分が含まれている可能性があります。診断結果に悪影響を与えるリスクが増大する場合は、ダウストリームのアプリケーションで、適切な制御を行う必要があります。

トラブルシューティング

このセクションでは、QIAcuityDx Universal MasterMix Kitの使用中に問題が発生した場合の対処方法について説明します。追加のサポートが必要な場合は、下記のお問い合わせ先に関する情報を利用して、QIAGENテクニカルサービスまでご連絡ください。国別の連絡先情報をお知らせします。

ウェブサイト：support.qiagen.com

QIAGEN
機器

NTCの増幅

アッセイ設計	プライマー/プローブを再設計します。 プライマープローブ濃度と塩化マグネシウム濃度を变化させてアッセイ条件を最適化します。
試薬の汚染	試薬を廃棄し、新しい試薬を使用してアッセイを繰り返します。
アッセイセットアップにおける汚染。	適切な洗浄材を使用して作業エリアを除染し、汚染に対する予防措置を講じてください。

増幅しない

PCR条件が最適化されていない	初期変性時間を長くします。 アニーリング/伸長時間を長くします。
開始テンプレートが不十分	アッセイマスターミックスに追加する開始テンプレートの量/濃度を増やします。

飽和フラグ

プローブの過飽和	イメージングパラメータの露出時間を短縮します。 イメージングパラメータのゲインを下げます。
----------	--

陽性クラスターと陰性クラスターの分離が不十分

アッセイ設計	プライマープローブ濃度と塩化マグネシウム濃度を变化させてアッセイ条件を最適化します。 信号対雑音比を高めるには、ダブルクエンチャーのTaqManプローブに切り替えます。
PCR条件が最適化されていない	初期変性時間を長くします。 アニーリング/伸長時間を長くします。

ラン間で観察された絶対定量値が違う

QIAcuityDx Universal MasterMixの添加が不十分	サブミックスの QIAcuityDx Universal MasterMixの最終濃度が1倍（4倍ストック溶液から）であることを確認します。
---------------------------------------	--



問題

コメントと推奨事項

解凍/セットアップ時間の変動

解凍/セットアップ時間が長くなると、絶対定量値に悪影響を与える可能性があります。最適なパフォーマンスを得るには、試薬の解凍を最大 30 分間とし、サブミックス（アッセイマスターミックス+テンプレート）を調製したら、すぐにナノプレートにロードする必要があります。解凍/セットアップ時間を延長する必要がある場合は、絶対定量の変化が最終結果に影響しないように、アッセイごとにガードバンドを設定する必要があります。

PCR条件が最適化されていない

変性温度を最適化します。
アニーリング/伸長温度を最適化します。

ナノプレートのウェル間で結果が一致しない

PCR条件が最適化されていない

アクティベーション時間を 2 分から 15 分に増やして最適化します。

白
機

発注情報

製品	内容	カタログ番号
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (1 ml)	最大 4 枚のQIAcuityDxナノプレートを用意する場合： 1 x QIAcuityDx Universal MasterMix、1 x 塩化マグネシウム、200 mM、2 x RNaseフリー水	260101
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (5 ml)	最大 20 枚のQIAcuityDxナノプレートを用意する場合： 5 x QIAcuityDx Universal MasterMix、2 x 塩化マグネシウム、200 mM、5 x RNaseフリー水	260102

本製品の取り扱いには、しかるべき配慮と注意を払う必要があります。QIAGEN®製品のユーザーすべてには、適用される現地の規制、および適用される規格やガイドラインに従うことを推奨します。

組機

文書変更履歴

日付

変更

R1、2024年7月

初版公開。

限定ライセンス QIAcuityDx® Universal MasterMix Kitの契約

本製品を使用することで、本製品の購入者またはユーザーは以下の条項に合意し、本契約を締結したものとみなされます。

- 本製品は、本製品書と共に提供されるプロトコルおよび本製品説明書のみに従い、パネルに含まれるコンポーネントのみを用いて使用することができます。QIAGENは、本製品と共に提供されるプロトコル、本製品説明書、www.qiagen.comに掲載されている追加プロトコルに説明されているものを除き、所有する知的財産の下、このパネルに含まれるコンポーネントをこのパネルに含まれていないコンポーネントと一緒に使用または組み込むライセンスを一切許諾しません。追加プロトコルには、QIAGENのユーザーがQIAGENの他のユーザーに提供しているものもあります。このようなプロトコルはQIAGENによる十分なテストや最適化が施されていません。QIAGENはこれらを保証せず、また、これらが第三者の権利を侵害しないことを保証しません。
- 明示されたライセンスを除き、QIAGENは本パネル、その使用、またはこの両方が第三者の権利を侵害しないことを保証しません。
- 本パネルとそのコンポーネントは1回のみ使用についてライセンスが許諾されるものであり、それらを再使用したり、再生したり、再販したりすることはできません。
- QIAGENは明示的に言及されているものを除き、明示・黙示を問わず他のあらゆるライセンス許諾を具体的に否認します。
- 本パネルの購入者とユーザーは、上記の禁止事項に至る、またはこれを助長する可能性のある行為を行わず、また他者に対しかかる行為を許容しないことに同意します。QIAGENは、本限定ライセンス契約の禁止事項の執行を法廷において強制することができ、本限定ライセンス契約の履行、あるいは本パネルやそのコンポーネントに関する知的財産権のあらゆる行使において、弁護士費用を含む調査と法廷に関わるすべての費用を回収するものとします。

最新の契約条項については、www.qiagen.comを参照してください。

商標：QIAGEN®、Sample to Insight®、QIAcuityDx®、QuantifiNova® (QIAGEN Group)、Cy® (GE Healthcare)、Taqman® (Roche Molecular Systems, Inc.)、FAM™、HEX™、ROX™、TAMRA™ (Thermo Fisher Scientific またはその子会社)。本文書で使用している登録済みの名称、商標などは、具体的な表示がない場合でも法的保護の対象からは外れません。

07/2024 HB-3592-001 © 2024 QIAGEN, all rights reserved.

このページは意図的に空白にしています

白
機

このページは意図的に空白にしています

機
密

このページは意図的に空白にしています

白
機

密
機