

Håndbog til EZ1[®] DSP DNA Blood Kit



Version 3

IVD

Til in vitro-diagnostisk brug.



REF 62124

HB 1054989DA

 QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND

R5 **MAT** 1054989DA



QIAGEN prøve- og analyse-teknologier

QIAGEN er den førende leverandør af innovative prøve- og analyse-teknologier, der muliggør isolation og påvisning af indholdet i enhver biologisk prøve. Vore avancerede højkvalitetsprodukter og -service garanterer succes fra prøve til resultat.

QIAGEN sætter standarder i:

- Oprensning af DNA, RNA og proteiner
- Nukleinsyre- og proteinanalyser
- microRNA-undersøgelser og RNAi
- Automatisering af prøve- og analyse-teknologier

Vor opgave er at bringe Dem i stand til at få enestående succes og gennembrud. For yderligere information, se www.qiagen.com.

Indhold

Kit-indhold	5
Symboler	5
Opbevaring	6
Anvendelse	6
Begrænsninger ved produktanvendelsen	7
Teknisk service	7
Advarsler og forholdsregler	7
Kvalitetskontrol	9
Princip og procedure	9
Ydeevnekaraktistika for EZ1 DSP DNA Blood-systemet	9
Udstyr og reagenser som leveres af brugeren	25
Vigtige bemærkninger	27
Opbevaring af blodprøver	27
Bundfald i reagenspatroner (RCB)	27
Arbejde med EZ1-instrumenter	27
Protokol: Oprensning af genomt DNA fra helblod ved brug af EZ1 Advanced XL	34
Protokol: Oprensning af genomt DNA fra helblod ved brug af EZ1 Advanced (med V2.0-kort)	36
Protokol: Oprensning af genomt DNA fra helblod ved brug af EZ1 Advanced (med V1.0-kort)	40
Protokol: Oprensning af genomt DNA fra helblod ved brug af BioRobot EZ1 DSP	43
Fejlfinding	45
Bilag A: Skærmeddelelser	47
Bilag B: Opbevaring, kvantificering og bestemmelse af DNA-renhed	73
* Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Flere informationer findes i de tilsvarende sikkerhedsdatablade (material safety data sheets MSDS), som kan fås hos den pågældende leverandør. Bilag C: Prøveark til brug sammen med EZ1 DSP DNA Blood-systemet	74
Bilag D: Eksempel på en EZ1 Advanced-rapportfil	77
Bestillingsinformationer	79



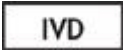

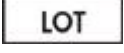


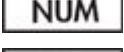
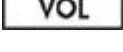
Kit-indhold

EZ1 DSP DNA Blood Kit			(48)
Katalognr.			62124
Antal præparationer			48
RCB	Reagenspatron, blod 350 μ l*	REAG CART BLOOD	48
DTH	Engangs fillterspidsholdere	DISP TIP HOLD	50
DFT	Engangs filterspidser	DISP FILT TIP	50
ST	Prøverør (2 ml)	SAMP TUBE	50
ET	Elueringsrør (1,5 ml)	ELU TUBE	50
	Q-Card [†]		1
	Håndbog	H B	1

* Indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Indeholder et guanidinsalt. Må ikke komme i kontakt med desinfektionsmidler, der indeholder blegemiddel. Se side 2 for yderligere information.

[†] Den indlagte information i Q-Card's stregkode er nødvendig til sporing af reagensdata ved brug af EZ1 Advanced- og EZ1 Advanced-instrumenter.

Symboler

 48	Indeholder reagenser til 48 prøvepræparationer
	Anvendes inden
	In vitro-diagnostisk medicinsk produkt
	Katalognummer
	Lot-nummer
	Materialenummer
	Komponenter
	Antal
	Volumen



Temperaturgrænser



Ansvarlig producent



Vigtig oplysning



Kun til brug sammen med



Indeholder



Guanidin-isothiocyanat



Guanidin-hydrochlorid



Ethanol



Globalt varenummer



Åbnes ved modtagelsen; reagenspatronerne(RCB) opbevares ved 2–8°C



Denne side ned ved åbning

Opbevaring

Reagenspatronerne (RCB) opbevares i køleskab ved 2–8°C. De magnetiske partikler i reagenspatronerne (RCB) forbliver aktive under opbevaring ved denne temperatur. Reagenspatronerne (RCB) må ikke nedfryses. Under opbevaring ved 2–8°C er reagenspatronerne (RCB) stabile indtil udløbsdatoen, der er trykt på etiketten og på kit-æskan. Efter fjernelse fra opbevaring i køleskab kan reagenspatronerne (RCB) opbevares én gang ved 15–25°C, men skal så bruges inden fire uger eller senest inden udløbsdatoen, der er trykt på etiketten, Q-kortet og på kit-æskan.

Buffere i reagenspatronen (RCB) kan danne bundfald under opbevaring. Reagenspatronen skal afbalanceres til stuetemperatur (15–25 °C), før brug. Check før brug og genopløs bundfald som beskrevet i "Bundfald i reagenspatron (RCB)", side 28.

Anvendelse

EZ1 DSP DNA Blood Kit benytter magnetisk partikel-teknologi til automatiseret isolation og oprensning af virus-nukleinsyrer fra biologiske prøver.

Produktet er beregnet til brug for professionelle brugere, såsom laboratorieteknikere og læger, der er uddannet i molekylærbiologisk teknik. EZ1 DSP DNA-blodprøvesystemet er kun beregnet til in vitro-diagnostisk brug.

Begrænsninger ved produktanvendelsen

Brugeren er ansvarlig for at validere systemets ydeevne til procedurer ved brug på laboratoriet, som ikke er dækket af QIAGEN evalueringsundersøgelser af ydeevne.

Systemets ydeevne er blevet etableret i evalueringsundersøgelser ved at isolere genomt DNA fra humant helblod.

For at minimere risikoen for negativ påvirkning på de diagnostiske resultater, skal der anvendes egnede kontroller til efterfølgende anvendelser. For yderligere validering anbefales retningslinjerne i International Conference on Harmonisation of Technical Requirements (ICH) i *ICH Q2(R1) Validering af analysemetoder*: Tekst og Metodik anbefales.

Alle frembragte diagnostiske resultater skal fortolkes i sammenhæng med andre kliniske- eller laboratorie resultater.

Teknisk service

QIAGENS tekniske service leverer høj kvalitet og er altid til rådighed. De tekniske serviceafdelinger er bemandede med erfarne videnskabsmænd med omfattende praktisk og teoretisk erfaring inden for prøve- og analyseteknologier og i brugen af QIAGEN® produkter. Kontakt os i tilfælde af spørgsmål eller vanskeligheder vedrørende EZ1 DSP DNA Blood Kit eller QIAGEN® produkter generelt.

QIAGENS kunder er en vigtig kilde til information om avancerede eller specialiserede anvendelser af vore produkter. Denne information er en hjælp for andre videnskabsfolk samt for forskerne ved QIAGEN. Vi opfordrer dig derfor til at kontakte os hvis du har forslag omkring produktydeevne eller nye anvendelser og teknikker.

For teknisk bistand og yderligere information henvises til vort tekniske supportcenter på www.qiagen.com/Support, eller du kan henvende dig til en af QIAGENS tekniske serviceafdelinger eller lokale forhandlere (se bagsiden eller besøg www.qiagen.com).

Advarsler og forholdsregler

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller når der arbejdes med kemikalier. Yderligere informationer

findes i de tilsvarende sikkerhedsdatablade (safety data sheets, SDS). De findes online i bekvemt og kompakt PDF-format på www.qiagen.com/safety hvor sikkerhedsdatabladene for hvert QIAGEN-kit og hver kit-komponent kan læses og udskrives.



ADVARSEL: Tilsæt IKKE blegemiddel eller sure opløsninger direkte til væskeaffaldet fra prøveklargøringen.

Visse buffere i reagenspatronerne (RCB) indeholder guanidin-hydrochlorid eller guanidin-isothiocyanat, der sammen med blegemiddel kan danne stærkt reaktive forbindelser.

Hvis der spildes væsker der indeholder disse buffere, vaskes med et egnet laboratorierengøringsmiddel og vand. Hvis der på et EZ1-instrument spildes væske der kan indeholde smitstoffer, desinficeres instrumentet med reagenser som beskrevet i den medfølgende brugermanual til EZ1-instrumentet.

Brudte eller utætte reagenspatroner (RCB) skal håndteres og bortskaffes i overensstemmelse med lokale sikkerhedsbestemmelser. Beskadede reagenspatroner (RCB) eller andre kit-komponenter må ikke anvendes, da brugen af dem kan medføre dårlig kit-ydeevne.

QIAGEN har ikke testet det væskeaffald, der fremkommer ved EZ1 DSP DNA-blodprøveproceduren, for smitsomme reststoffer. Kontamination af væskeaffaldet med smitsomme reststoffer er højst usandsynlig, men kan ikke fuldstændigt udelukkes. Derfor skal restvæskeaffald betragtes som smitsomt og håndteres i overensstemmelse med lokale sikkerhedsbestemmelser.

Følgende farer og forholdsregler gælder for komponenterne i EZ1 DSP DNA Blood Kit:

Reagent Cartridge Blood



Indeholder: ethanol; guanidine thiocyanate; guanidine hydrochloride. Fare! Farlig ved indtagelse. Forårsager svære forbrændinger af huden og øjenskader. Meget brandfarlig væske og damp. Udvikler meget giftig gas ved kontakt med syre. Indholdet/ beholderen bortskaffes i et godkendt affaldsmottagelsesanlæg. VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Tilmudset tøj tages straks af/ fjernes. Skyl/ brus huden med vand. Ring omgående til en GIFTINFORMATION eller en læge. Holdes væk fra varme/gnister/åben ild/varme overflader. Rygning forbudt. Opbevares på et godt ventileret sted. Opbevares køligt. Bær beskyttelseshandsker/ beskyttelsestøj/

øjenskytelse/ ansigtsbeskyttelse.

Kvalitetskontrol

I overensstemmelse med QIAGENs ISO-certificerede kvalitetsstyringssystem testes hvert lot af EZ1 DSP DNA Blood Kit efter fastlagte specifikationer for at sikre en ensartet produktkvalitet.

Introduktion

EZ1 DSP DNA Blood Kit er beregnet til oprensning af genomt DNA fra helblodprøver. Magnetisk partikel-teknologi frembringer høj kvalitets-DNA, der er egnet til direkte brug i efterfølgende anvendelser, såsom forstærkning eller andre enzymreaktioner. EZ1-instrumentet udfører alle trin i prøveklargøringsproceduren, med op til 6 prøver (ved brug af EZ1 Advanced eller BioRobot® EZ1 DSP), eller op til 14 prøver (ved brug af EZ1 Advanced XL) i en enkelt kørsel.

Ved brug af BioRobot EZ1 DSP, eller brug af EZ1 Advanced med protokolkortet V1.0, er prøve input-volumen 350 µl, og DNA-eluering finder sted i 200 µl elueringsbuffer. Ved brug af EZ1 Advanced XL, eller brug af EZ1 Advanced med protokolkortet V2.0, kan prøve input-volumen vælges fra 200 µl eller 350 µl, og DNA-elueringsvolumen kan vælges fra 50 µl, 100 µl, eller 200 µl.

Princip og procedure

Magnetisk partikel-teknologi kombinerer hurtigheden og effektiviteten ved silica-baseret nukleinsyreoprensning med den bekvemme håndtering af magnetiske partikler (se procesdiagram, side 3). DNA isoleres fra lysater i ét trin via dets binding til partiklernes silica-overflade i nærvær af et chaotropisk salt. Partiklerne separeres fra lysaterne ved hjælp af en magnet. DNA vaskes derpå grundigt og elueres i elueringsbuffer.

Ydeevnekaraktistika for EZ1 DSP DNA Blood-systemet

Systemets robusthed

Flere forskellige primærrør og antikoagulanter kan anvendes til at tappe blodprøver til EZ1 DSP DNA Blood-proceduren. Tabel 1. Blodtapningsrør, der er testet med EZ1 DSP DNA Blood-systemet

Det gennemsnitlige, relative DNA-udbytte fra blodprøver, hvor der anvendes forskellige primærrør, er vist i Figur 1 (side 3).

EZ1 DNA-procedure

Helblod, blodprodukter eller nedbrudt væv



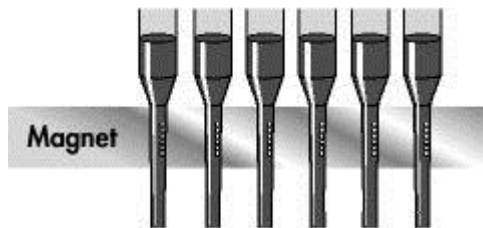
Lysér



**Magnetiske partikler
tilsat prøverne**



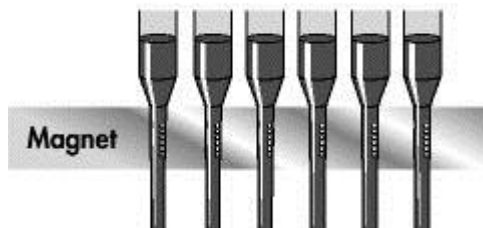
**DNA binder
til magnetiske partikler**



**Magnetisk
separation**



Vask



**Magnetisk
separation**



Eluér

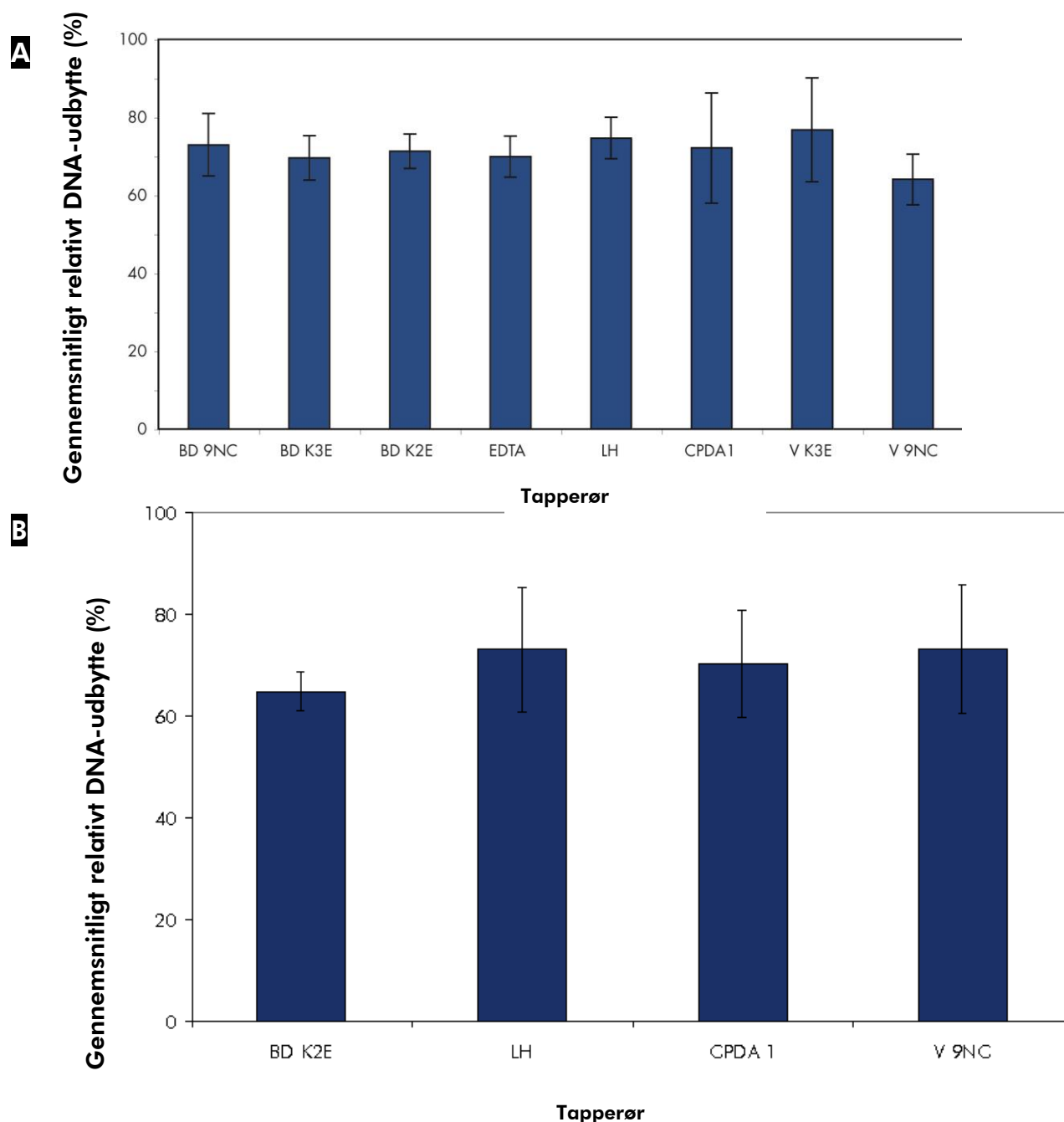


Oprensat, højkvalitets- DNA

Tabel 1. Blodtapningsrør, der er testet med EZ1 DSP DNA Blood-systemet

Rør	Forkortelse	Producent	Kat. nr.*	Nominel tappevolumen (ml)
BD Vacutainer® 9NC	BD 9NC	Becton Dickinson	366007	9
BD Vacutainer K3E	BD K3E	Becton Dickinson	368457	10
BD Vacutainer K2E	BD K2E	Becton Dickinson	367864	6
Monovette® EDTA	EDTA	Sarstedt	21.066.001	9
Monovette LH	LH	Sarstedt	21.065.001	9
Monovette CDPA1	CPDA1	Sarstedt	11.610.001	8.5
Vacurette® K3E	K3E	Greiner Bio-One	455036	9
Vacurette 9NC	V 9NC	Greiner Bio-One	454382	9

Katalognumre kan være ændret. Kontroller med producenten eller forhandleren.



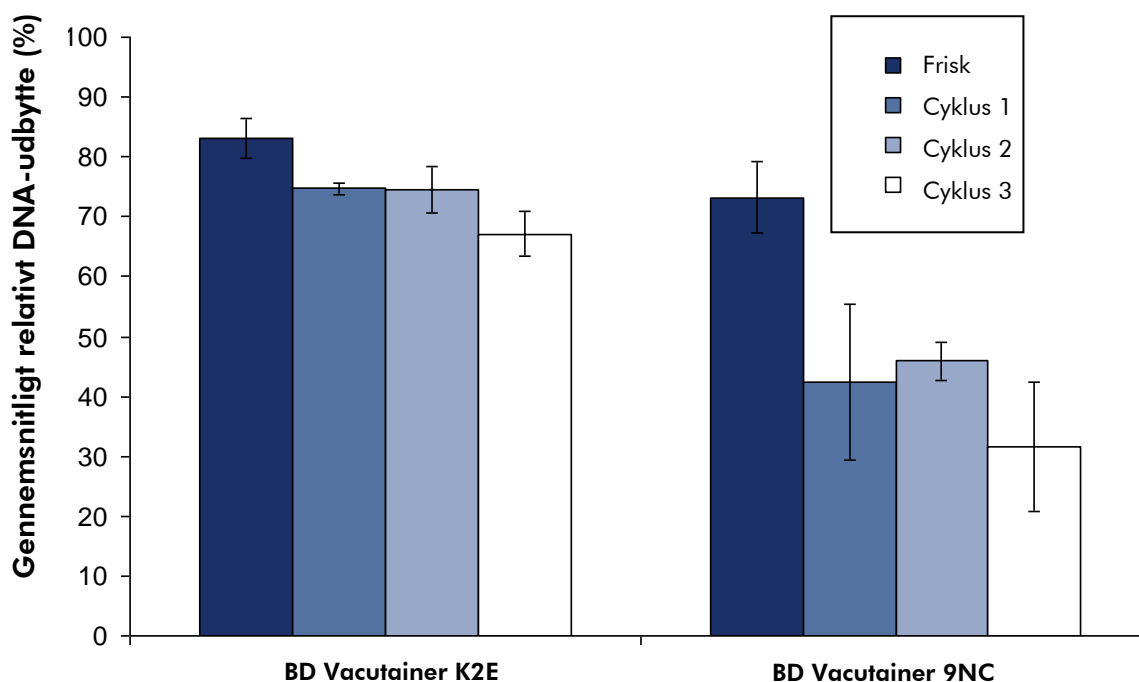
Figur 1. Systemrobusthed ved brug af forskellige tapperør og antikoagulanter.

Helblod blev tappet fra raske donorer i forskellige typer rør med replica á 3 pr. donor og rør. De anvendte rør er vist på Tabel 1 (side 12).

A Blod blev indhentet fra 6 donorer i 8 forskellige typer rør. Genomt DNA blev oprenset fra 350 μ l prøver med eluering i 200 μ l. **B** Blod blev indhentet fra 4 donorer i 4 forskellige typer rør. Genomt DNA blev oprenset fra 200 μ l prøver ved brug af EZ1 DSP DNA Blood-systemet på BioRobot EZ1 DSP, med eluering i 200 μ l. Teoretiske DNA-udbytter fra hver donor og rør blev bestemt ved optælling af hvide blodceller. Stolperne viser det gennemsnitlige, relative DNA-udbytte (sammenlignet med det teoretiske udbytte) med standard afvigelser.

Nedfrysning/optøning af prøver

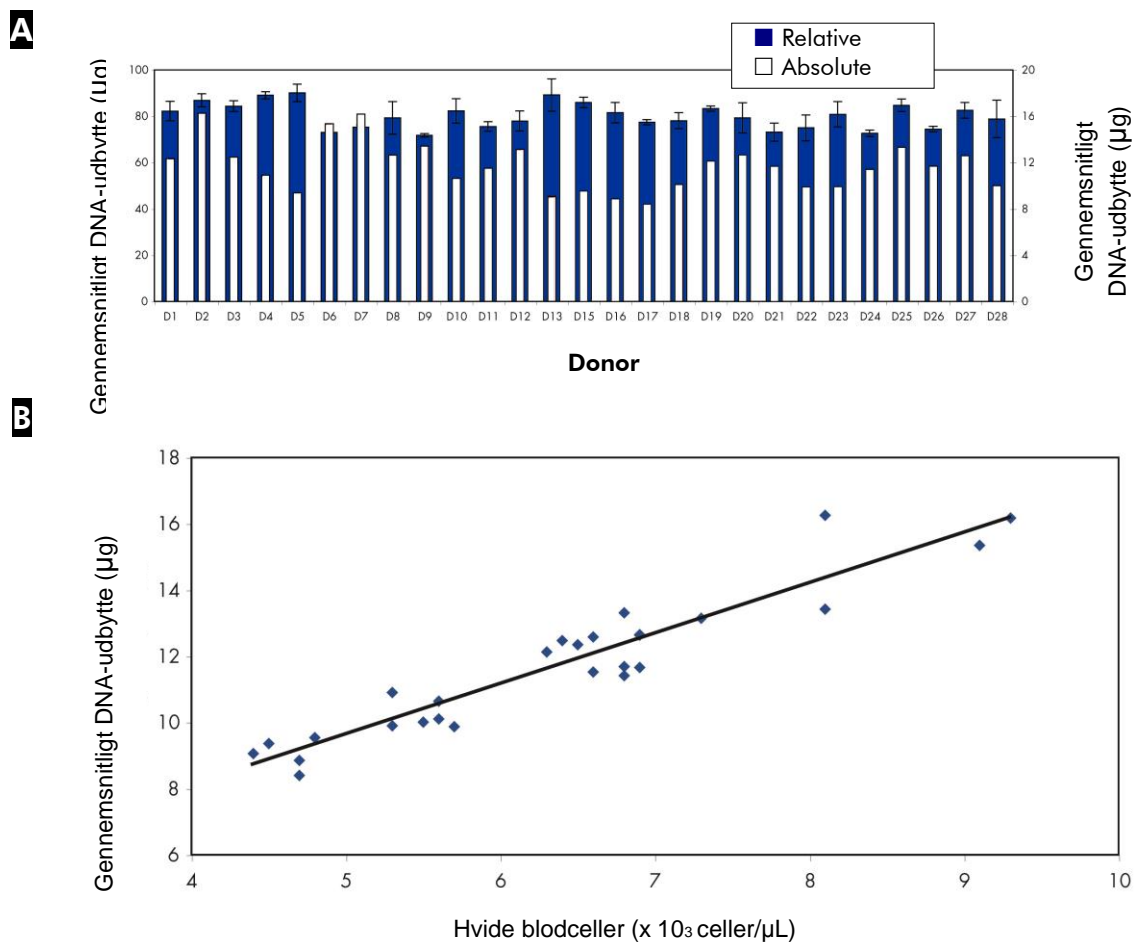
Friske eller frosne, human helblodprøver kan anvendes (se "Opbevaring af blodprøver", side 28). Virkningen af blodprøvers nedfrysning og optøning på DNA-oprensning ved brug af EZ1 DSP DNA Blood-systemet er blevet bestemt (Figur 2).



Figur 2. Fryse-/optøningscyklernes indflydelse på DNA-udbytter. Helblod blev tappet fra 3 raske donorer i de angivne rør med hver 6 replica. Rørene er vist i Tabel 1. Genomt DNA blev oprenset fra 350 μ l fra hver prøve ved brug af EZ1 DSP DNA Blood-systemet, og middelværdier af relativt DNA-udbytte (Frisk) blev udregnet for hver donor og rør. Rørene med blodprøver blev nedfrosset og optøet 3 gange. Genomt DNA blev oprenset efter hver fryse-/optøningscyklus (Cyklus 1-Cyklus 3) ved brug af EZ1 DSP DNA Blood-systemet, og det relative DNA-udbytte blev bestemt. Til nedfrysning/optøning anbefales rør med EDTA som antikoagulans.

Udbytte af oprenset DNA

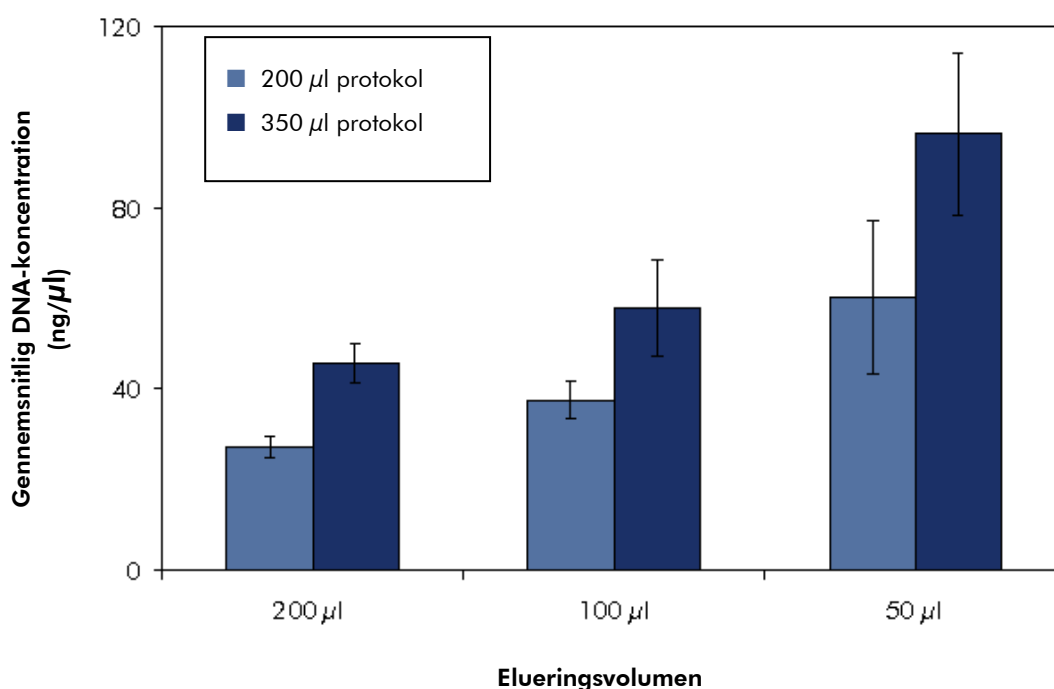
Genomt DNA blev oprenset fra 350 μ l blodprøver fra raske donorer. Mængden af DNA, der bliver oprenset ved brug af EZ1 DSP DNA Blood-proceduren, afhænger af indholdet af hvide blodceller i hver blodprøve, og udbyttet kan variere fra donor til donor (Figur 3).



Figur 3. Gennemsnitlige, absolute og relative DNA-udbytter fra forskellige donorer. Helblod blev indhentet fra 27 donorer in triplo. Genomt DNA blev oprenset fra 350 µl af hver prøve ved brug af EZ1 DSP DNA Blood-systemet. **A** Teoretisk DNA-udbytte blev bestemt ved tælling af hvide blodceller. Gennemsnitlige absolute (**Absolute**) og relative (**Relative**) (sammenlignet med beregnet, teoretisk udbytte) DNA-udbytter er vist for hver donor. **B** Gennemsnitlige, absolutte udbytter er vist for hver donor i forhold til tælling af hvide blodceller.

Koncentration af oprenset DNA ved hjælp af forskellige elueringsvolumener

Genomt DNA blev oprenset fra 250 µl og 350 µl blodprøver fra raske donorer ved brug af EZ1 DSP DNA Blood-proceduren på EZ1 Advanced XL med tre forskellige elueringsvolumener (Figur 4).



Figur 4. Gennemsnitlig DNA-koncentration opnået med forskellige elueringsvolumener.

Helblod blev indhentet fra 3 donorer. Genomt DNA blev oprenset fra 200 μl og 350 μl af hver prøve og elueret i 200 μl, 100 μl, og 50 μl, hver in triplo, ved brug af EZ1 DSP DNA Blood-systemet på EZ1 Advanced XL. Gennemsnitlig DNA-koncentration er vist for hver protokol og elueringsvolumen.

i På grund af den lave mængde elueringsbuffer og opvarmning af elueringsbuffer under processen, kan eluering med 50 μl føre til endelige elueringsvolumener mindre end 50 μl.

Eluering af oprenset genomt DNA

Genomt DNA elueres i en lavsalt-elueringsbuffer. Det eluerede DNA er klar til brug i efterfølgende in vitro-diagnostiske analyser, såsom CE-IVD-mærkede *artus*[®] PCR-kits.

Helblod blev indsamlet fra 30 tilfældigt valgte bloddonorer, DNA blev oprenset fra 350 μl prøver og elueret i 200 μl ved brug af EZ1 DSP DNA Blood-systemet. *artus* MTHFR LC PCR-kittet og *artus* TPMT LC PCR-kittet blev brugt til at bestemme klinisk relevante, genetiske varianter i methylenetetrahydrofolatreductase (MTHFR)-, og thiopurin S-metyltransferase (TPMT)- gener. Prøverne blev analyseret på et LightCycler[®]-instrument. Dataene er vist i tabel 2 og 3 (startende på side 17 og 19), med smeltekurveanalyse og procentfordeling for varianter af MTHFR-genet, illustreret i figur 5 og 6 (side 18 og 19).

Tabel 2. Polymorfier ved MTHFR-genets nukleotid 667 og nukleotid 1298, påvist ved brug af artus MTHFR LC PCR-kittet

Prøve-nummer	Nukleotid 677	Nukleotid 1298	Genotype
1	heterozygotisk var	homozygotisk wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
2	homozygotisk wt	homozygotisk wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298
3	homozygotisk wt	heterozygotisk var	wt677/wt677 wt1298/var1298
4	homozygotisk var	homozygotisk wt	var677/var677 wt1298/wt1298
5	homozygotisk wt	heterozygotisk var	wt677/wt677 wt1298/var1298
6	homozygotisk wt	heterozygotisk var	wt677/wt677 wt1298/var1298
7	heterozygotisk var	homozygotisk wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
8	homozygous wt	homozygous wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298
9	homozygous wt	heterozygous var	wt677/wt677 wt1298/var1298
10	heterozygous var	heterozygous var	wt677/var677 wt1298/var1298
11	homozygous wt	heterozygous var	wt677/wt677 wt1298/var1298
12	homozygous wt	homozygous wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298
13	homozygous wt	homozygous wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298

var: Variant-allel ved angivet position i MTHFR-genet.

wt: Vildtype-allel ved angivet position i MTHFR-genet.

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 2. Fortsat

Prøve- nummer	Nukleotid 677	Nukleotid 1298	Genotype
14	heterozygotisk var	homozygotisk wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
15	heterozygotisk var	homozygotisk wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
16	homozygotisk wt	heterozygotisk var	wt677/wt677 wt1298/var1298
17	homozygotisk var	homozygotisk wt	var677/var677 wt1298/wt1298
18	heterozygotisk var	homozygotisk wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
19	homozygotisk wt	heterozygotisk var	wt677/wt677 wt1298/var1298
20	homozygotisk wt	heterozygotisk var	wt677/wt677 wt1298/var1298
21	homozygotisk wt	homozygotisk var	wt677/wt677 var1298/var1298
22	heterozygous var	homozygous wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
23	heterozygous var	heterozygous var	wt677/var677 wt1298/var1298
24	heterozygous var	homozygous wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
25	homozygous wt	heterozygous var	wt677/wt677 wt1298/var1298
26	homozygous wt	homozygous var	wt677/wt677 var1298/var1298
27	homozygous wt	heterozygous var	wt677/wt677 wt1298/var1298

var: Variant-allel ved angivet position i MTHFR-genet.

wt: Vildtype-allel ved angivet position i MTHFR-genet.

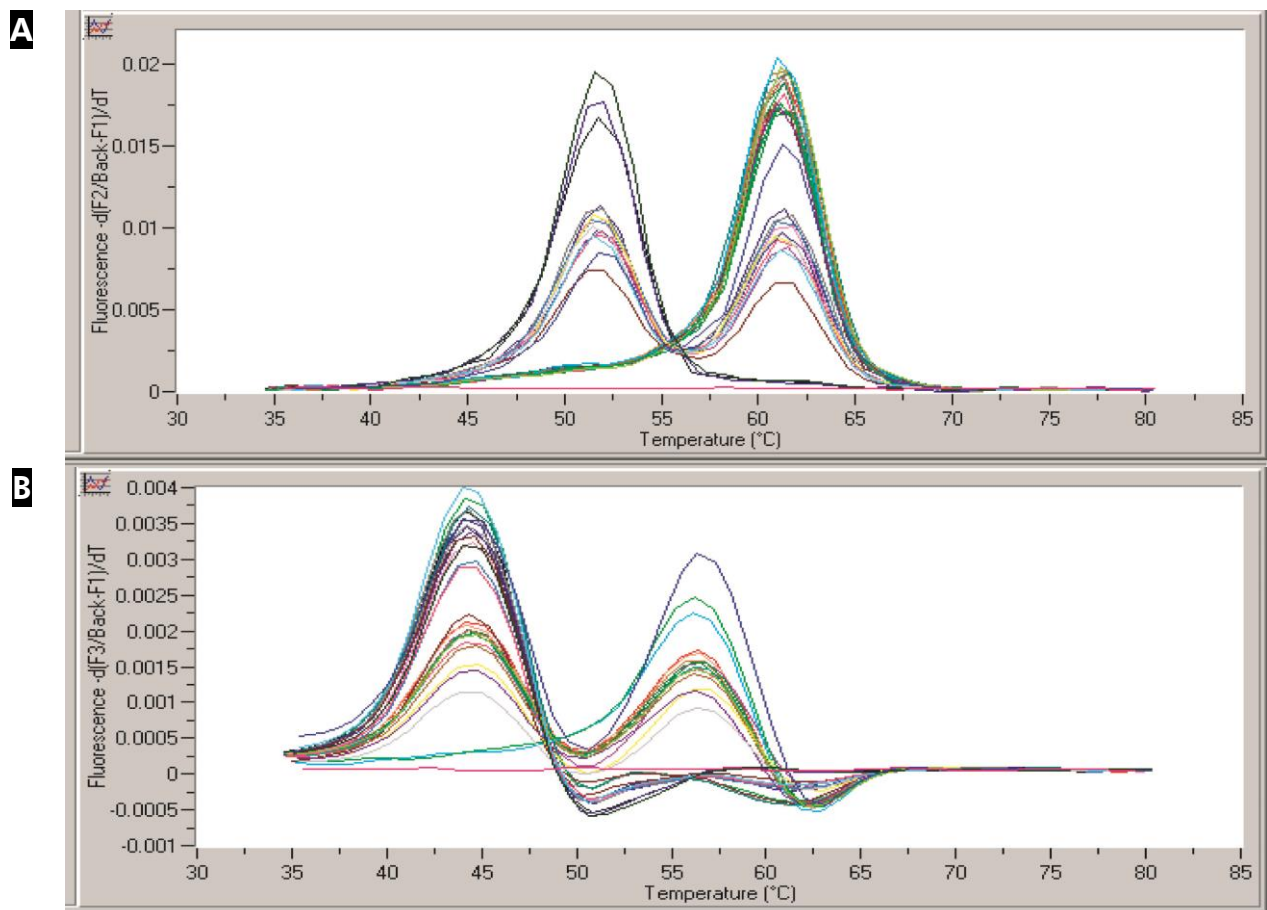
Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 2. Fortsat

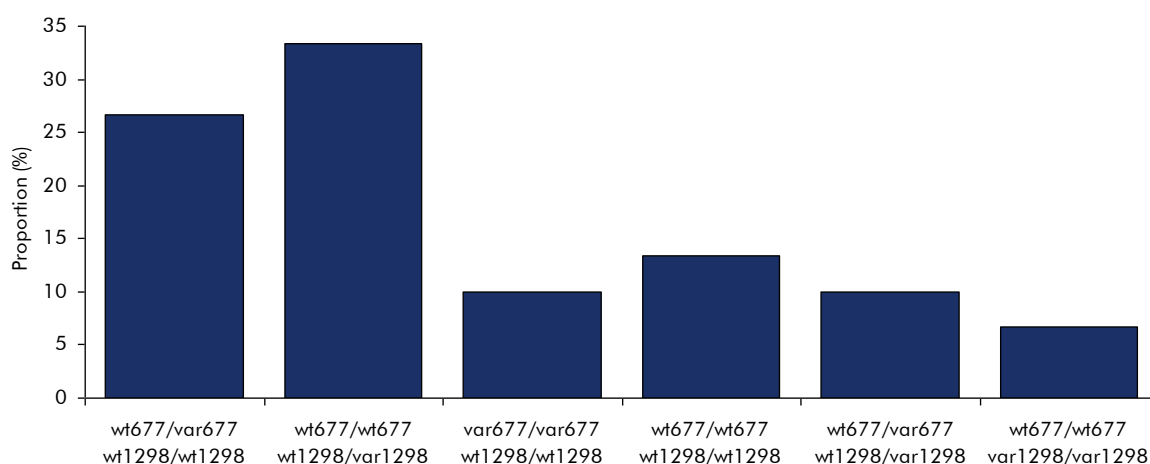
Prøve-nummer	Nukleotid 677	Nukleotid 1298	Genotype
28	heterozygotisk var	heterozygotisk var	wt677/var677 wt1298/var1298
29	heterozygotisk var	homozygotisk wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
30	homozygotisk var	homozygotisk wt	var677/var677 wt1298/wt1298

var: Variant-allel ved angivet position i MTHFR-genet.

wt: Vildtype-allel ved angivet position i MTHFR-genet.



Figur 5. Smeltekurveanalyse af forstærkningsprodukter ved MTHFR-genets nukleotid 677 og 1298. DNA blev oprenset fra 30 donorerers helblod ved brug af EZ1 DSP DNA Blood-systemet. Eluater blev analyseret ved brug af det CE-lvD-mærkede *artus* MTHFR LC PCR-kit med smeltekurveanalyse på LightCycler-instrumentet. **A** Analyse ved nukleotid 677. **B** Analyse ved nukleotid 1298.



Figur 6. Fordeling af genotyper der blev påvist for MTHFR-genet. Data fra Tabel 2 og figur 5 er sammenfattet grafisk som brøkdelt af hver påvist genotype.

Tabel 3. Polymorfier af TPMT-genet, der blev påvist ved brug af TPMT LC PCR-kittet.

Prøve-nummer	TPMT-genotype
1	TPMT*1/*1
2	TPMT*1/*1
3	TPMT*1/*1
4	TPMT*1/*1
5	TPMT*1/*1
6	TPMT*1/*3A eller TPMT*3C/*3B
7	TPMT*1/*1
8	TPMT*1/*3A eller TPMT*3C/*3B
9	TPMT*1/*1
10	TPMT*1/*3A eller TPMT*3C/*3B
11	TPMT*1/*1
12	TPMT*1/*1
13	TPMT*1/*1
14	TPMT*1/*1

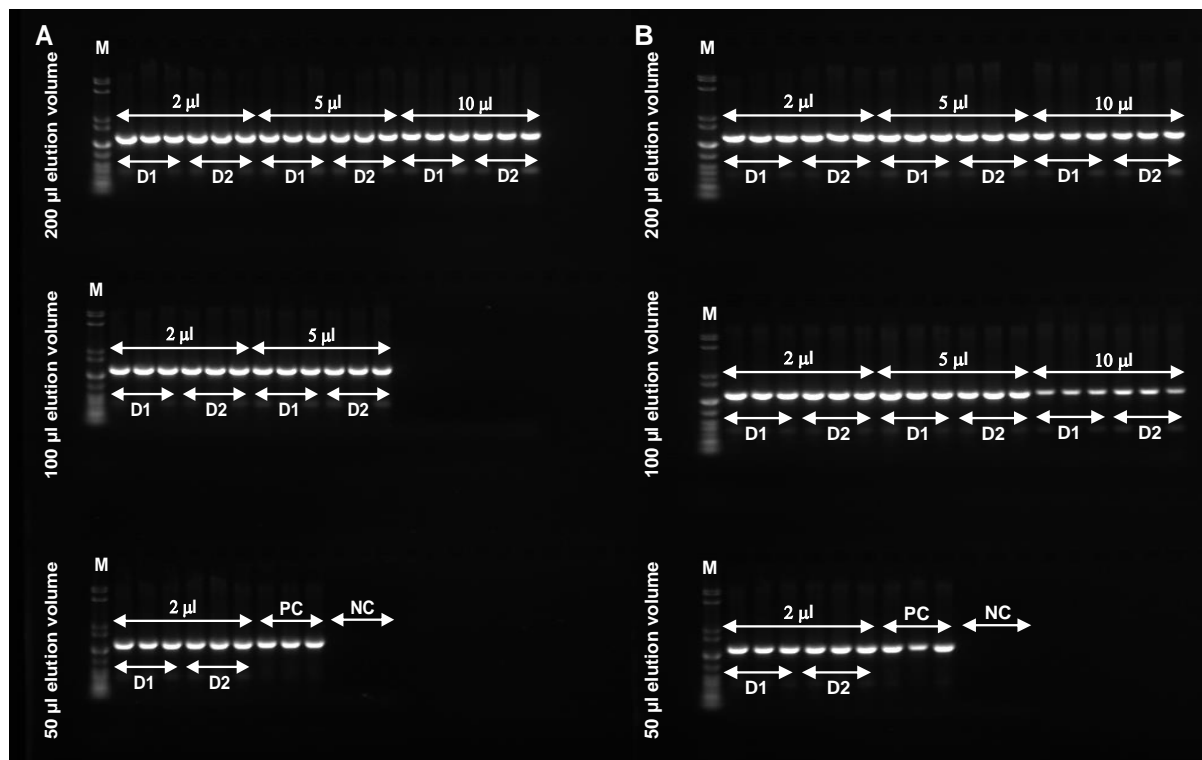
Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 3. Fortsat

Prøve-nummer	TPMT-genotype
15	TPMT*1/*1
16	TPMT*1/*1
17	TPMT*1/*3A eller TPMT*3C/*3B
18	TPMT*1/*1
19	TPMT*1/*1
20	TPMT*1/*1
21	TPMT*1/*1
22	TPMT*1/*1
23	TPMT*1/*1
24	TPMT*1/*1
25	TPMT*1/*1
26	TPMT*1/*1
27	TPMT*1/*1
28	TPMT*1/*1
29	TPMT*1/*1
30	TPMT*1/*1

Inhibitionstest

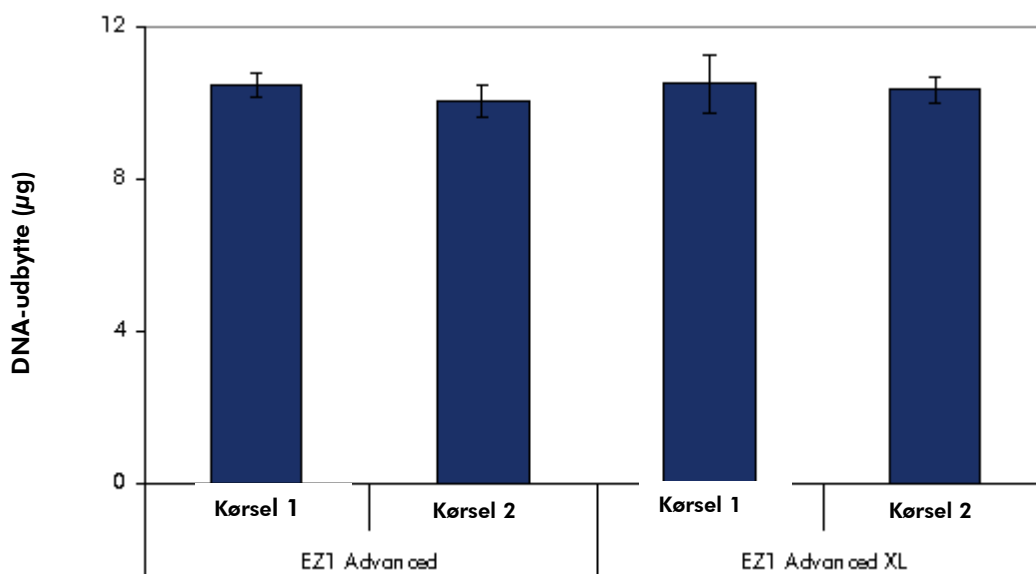
Virkningerne af voksende mængder eluat, anvendt i PCR på PCR-ydeevne, er blevet bestemt (Figur 7).



Figur 7. Virkninger af eluatvolumen, anvendt i PCR på PCR-ydeevne. Blod blev indhentet fra to raske donorer (**D1**, **D2**) i BD K2E—ør. Genomt DNA blev oprenset fra 350 µl (**A**) og 200 µl (**B**) portioner in triplo ved brug af EZ1 DSP DNA Blood-systemet. DNA blev elueret i 200 µl, 100 µl, eller 50 µl (**eluteringsvolumen**). Den angivne mængde eluat blev brugt i en 50 µl PCR med primere til et 100 bp humant gen-fragment i enkeltkopi. **PC**: Positiv kontrol. **NC**: Negativ kontrol. **M**: Lav DNA-masse-stige. (Bemærk at anvendelse af store mængder høje DNA-koncentrationer kan forårsage overbelastning af PCR'en, som vist, f.eks. ved de svagere bånd ved brug af 10 µl af en 100 µl eluering i PCR'en.)

Præcisionsanalyse

DNA-udbytter fra 350 μ l humant helblod blev sDNA yield (μ g) ammenlignet for forskellige kørsler på EZ1 DSP DNA Blood-systemet på EZ1 Advanced og EZ1 Advanced XL. Inter-kørsels præcisionsdataene er vist som standardafvigelser for DNA-udbyttene (Figur 8).



Figur 8. Intra- og inter-kørselspræcision ved brug af EZ1 DSP DNA Blood-systemet.

Blod blev indsamlet fra en rask donor i BD K2E-rør og samlet før brug. Genomt DNA blev oprenset fra 350 μ l portioner i 2 kørsler (**Kørsel 1**, **Kørsel 2**) af 6 replica af hver ved brug af EZ1 Advanced, og fra 28 350 μ l portioner i 2 kørsler (**Kørsel 1**, **Kørsel 2**) af 14 replica hver på the EZ1 Advanced XL ved brug af EZ1 DSP DNA Blood-systemet. Gennemsnitligt samlet DNA-udbytte og standardafvigelse er vist for hver kørsel. Intra-kørsels præcisionsværdier var 2,90 % (Kørsel 1, EZ1 Advanced), 3,80 % (Kørsel 2, EZ1 Advanced), 7,17 % (Kørsel 1, EZ1 Advanced XL), og 3,45 % (Kørsel 2 EZ1 Advanced XL), og den samlede præcision var 5,17%.

Eluat-stabilitet

Stabilitet for genomt DNA i EZ1-eluater er demonstreret i op til 24 måneder under opbevaring ved 5° C, og i op til 36 måneder under opbevaring ved – 20°C eller –80°C.

Udelukkelse af overførsel mellem prøver

Tolv kørsler ved brug af EZ1 Advanced (med V2.0 protokolkortet; 350 μ l input, 200 μ l eluering) og ni kørsler ved brug af EZ1 Advanced XL (200 μ l input, 200 μ l eluering) blev udført med EZ1 DSP DNA Blood-systemet for at evaluere risikoen for krydskontamination under og mellem EZ1 DSP DNA Blood-procedurer. For at påvise prøve-til-prøve overførsel, blev kørslerne udført med blodprøver fra mænd (positive) og kvinder (negative) i skiftende positioner, som vist i tabel 4 og tabel 5. Hver tredje kørsel blev udført ved brug af udelukkende blodprøver fra kvinder. Alle eluater blev testet for forstærkning af et 78 bp-fragment af det Y-kromosom specifikke enkeltkopi gen, SRY, ved brug af QIAGEN QuantiTect® Probe PCR-kittet.

Tabel 4. EZ1 Advanced krydskontamineringstest, opstilling og C_T-værdier for positive (mandlige) prøver

Kørsel	Position					
	1	2	3	4	5	6
1	23,37	F	23,14	F	23,22	F
2	F	23,41	F	23,15	F	23,44
3	F	F	F	F	F	F
4	23,53	F	23,27	F	23,39	F
5	F	23,28	F	23,39	F	23,46
6	F	F	F	F	F	F
7	23,14	F	23,50	F	23,17	F
8	F	23,21	F	23,46	F	23,44
9	F	F	F	F	F	F
10	23,29	F	23,45	F	23,47	F
11	F	23,53	F	23,39	F	23,42
12	F	F	F	F	F	F

F: Kvindelige (negative) prøver.

Tal: C_T-værdier for mandlige (positive) prøver.

Tabel 5. EZ1 Advanced XL krydskontamineringstest, opstilling og C_T-værdier for positive (mandlige) prøver

Kørsel	Position						
	1	2	3	4	5	6	7
1	24,27	F	24,13	F	24,12	F	24,22
2	F	23,92	F	24,12	F	23,85	F
3	F	F	F	F	F	F	F
4	24,02	F	23,98	F	24,31	F	24,35
5	F	24,74	F	24,56	F	24,62	F
6	F	F	F	F	F	F	F
7	24,48	F	24,64	F	24,49	F	24,52
8	F	24,55	F	24,40	F	24,52	F
9	F	24,80	F	24,70	F	24,68	F
Kørsel	Position						
	8	9	10	11	12	13	14
1	F	23,99	F	24,16	F	24,18	F
2	24,06	F	24,11	F	23,94	F	24,02
3	F	F	F	F	F	F	F
4	F	24,22	F	24,30	F	24,10	F
5	24,64	F	24,28	F	24,59	F	24,53
6	F	F	F	F	F	F	F
7	F	24,62	F	24,41	F	24,66	F
8	24,37	F	24,46	F	24,58	F	24,46
9	24,74	F	24,52	F	24,80	F	24,67

F: Kvindelige (negative) prøver.

Tal: C_T-værdier for mandlige (positive) prøver.

Alle mandlige blodprøver blev testet positive i PCR (C_T-værdier er opførte i tabel 4 og tabel 5), og alle kvindelige blodprøver blev testet negative. Disse eksperimenter viser at EZ1 DSP DNA Blood-proceduren ikke giver nogen overførsel mellem prøver under disse betingelser.

Udstyr og reagenser som leveres af brugeren

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller når der arbejdes med kemikalier. Flere informationer findes i de tilsvarende sikkerhedsdatablade (safety data sheets, SDS), som kan fås hos den pågældende leverandør.

Alle protokoller

- Pipetter* og sterile, RNase-fri pipettespidser
- Blød papirserviet
- Vand
- 70% ethanol
- Ekstraudstyr: ryste-inkubator* (hvis reagenspatronerne [RCB] indeholder bundfald i bunden af brøndene)
- Ekstraudstyr: mikrocentrifuge* (hvis magnetiske partikler skal fjernes fra eluater)

Til BioRobot EZ1-brugere

- BioRobot EZ1 DSP-instrument* (udgået)
- EZ1 DSP DNA Blood Card (kat. nr. 9017713)

Til EZ1 Advanced-brugere

- EZ1 Advanced-instrument* (udgået)
- EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card (kat. nr. 9018305)

Til EZ1 Advanced XL-brugere

- EZ1 Advanced XL-instrument* (kat. nr. 9001492)
- EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card (kat. nr. 9018702)

Til EZ1 Advanced- og EZ1 Advanced XL-brugere

- Til prøvesporing er ét af følgende nødvendig:

* Sørg for, at instrumenterne er blevet eftersat, vedligeholdt og kalibreret regelmæssigt i henhold til producentens anbefalinger.

- PC (herunder monitor; QIAGEN PC, kat. nr. 9016310, og monitor, kat. nr. 9016308, eller egen PC og monitor) med EZ1 Advanced Communicator Software (software leveret med EZ1 Advanced- og EZ1 Advanced XL-instrumenter)
- Printer (kat. nr. 9018464) og tilbehørspakke til printer (kat. nr. 9018465)
- Ekstraudstyr: 80% ethanol* og 2 ml rør med skruelåg (hvis de ekstra vasketrin med 80% ethanol udføres på EZ1 Advanced ved brug af V2.0 protokol kortet, eller på EZ1 Advanced XL, se "Ting der skal gøres før start", side 34

* Anvend ikke denatureret alcohol som indeholder andre stoffer end methanol eller methylethylketon.

Vigtige bemærkninger

Opbevaring af blodprøver

Helblodsprøver, behandlet med EDTA, ACD, eller heparin*, kan anvendes, og kan være friske eller nedfrosne. Nedfrosne prøver skal optøs ved stuetemperatur (15–25°C) under forsigtig omrøring før proceduren påbegyndes. Det oprensede DNA-udbytte og kvalitet afhænger af blodets opbevaringsbetingelser. Friskere blodprøver kan give bedre resultater.

- Ved korttidsopbevaring (op til 10 dage), tappes blod i rør med EDTA som antikoagulant, og rørene opbevares ved 2–8°C. Ved anvendelser der kræver maksimal fragmentstørrelse, såsom Southern blotting, anbefales dog kun opbevaring ved 2–8°C i op til 3 døgn, idet små niveauer af DNA-nedbrydning vil indtræffe efter dette tidspunkt.
- Ved langtidsopbevaring tappes blod i rør der indeholder en standardkogulans (fortrinsvis EDTA, hvis der kræves højmolekylært DNA), og rørene opbevares ved –70°C.
- Blod der viser tegn på koagulation må ikke anvendes.

Bundfald i reagenspatroner (RCB)

Bufferen i reagenspatronens (RCB) brønd 1 (brønden nærmest fronten af EZ1-instrumentet når reagenspatronen (RCB) indsættes) kan danne et bundfald under opbevaring. Reagenspatronen skal afbalanceres til stuetemperatur (15–25 °C), før brug. Om nødvendigt genopløses dette under mild omrøring ved 30–40°C.

Arbejde med EZ1-instrumenter

De vigtigste kendetegn for EZ1-instrumenter omfatter:

- Oprensning af højkvalitets-nukleinsyrer fra 1-6 eller 1-14 prøver pr. kørsel
- Lille fladeareal for at spare laboratorieplads
- Forprogrammerede EZ1 DSP-kort der indeholder protokoller klar til brug

* Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, éngangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Flere informationer findes i de tilsvarende sikkerhedsdatablade (material safety data sheets, MSDS), som kan fås hos den pågældende leverandør.

- Forfyldte, forseglede reagenspatroner for nem, sikker og hurtig opsætning af EZ1-instrumenter
- Fuldstændig automatisering af nukleinsyreoprensning

Yderligere kendetegn ved EZ1 Advanced og EZ1 Advanced XL omfatter:

- Stregkodelæsning og prøvesporing
- Kit-datasporing med Q-Card, leveres med kittet
- UV-lampe der hjælper til at eliminere overførsel og muliggør dekontamination

i UV-dekontamination bidrager til at reducere mulig patogen kontamination af EZ1 Advanced- og EZ1 Advanced XL--arbejdsbordets flader. Inaktiveringsaktiviteten skal bestemmes for hver enkelt organisme og afhænger for eksempel af lagtykkelse og prøvetype. QIAGEN kan ikke garantere fuldstændig udryddelse af specifikke patogener.

EZ1-kort

EZ1 DSP DNA Blood-protokollen lagres på forprogrammerede EZ1-kort (integrerede kredskort). Brugeren indsætter simpelthen EZ1-kortet i det pågældende EZ1-instrument, og instrumentet er klar til at køre en protokol (Figur 9 og 10).



Figur 9. Nem protokolopsætning ved brug af EZ1-kort. Indsætning af et EZ1-kort, der indeholder protokollen, i EZ1-instrumentet.

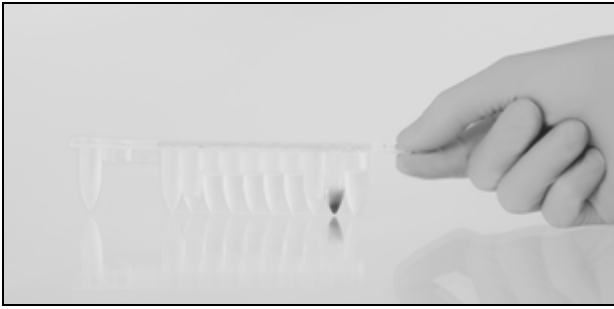
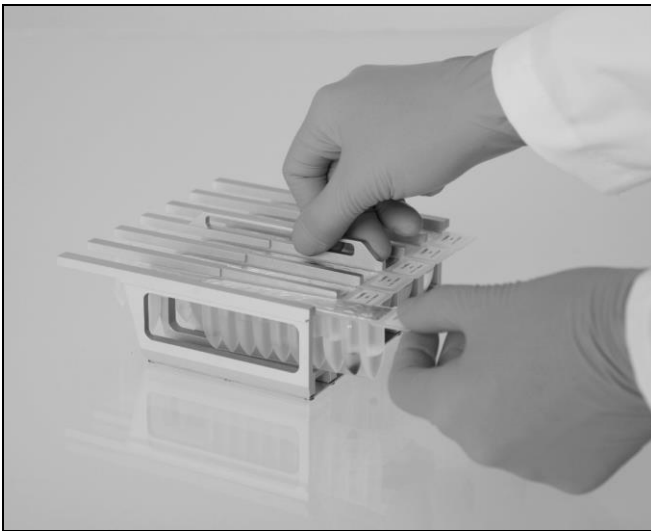
i Instrumentet må først tændes efter at et EZ1-kort er indsat. Sørg for at EZ1-kortet er trykket helt ind! Ellers kan vigtige instrumentdata gå tabt og føre til hukommelsesfejl. EZ1-kort må ikke udskiftes medens instrumentet er tændt.



Figur 10. EZ1-kort trykket helt ind i EZ1-kortsprækken.

Reagenspatroner (RCB)

Reagenser til nukleinsyreoprensning fra en enkelt prøve er indeholdt i en enkelt reagenspatron (RCB) (Figur 11, side 30). Hver brønd i patronen (RCB) indeholder et specifikt reagens, såsom magnetiske partikler, lysisbuffer, vaskebuffer eller elueringsbuffer (AVE). Eftersom hver brønd kun indeholder den nødvendige mængde reagens, undgås dannelse af overskydende affald fra restreagens ved afslutningen af oprensningsproceduren.

A**B**

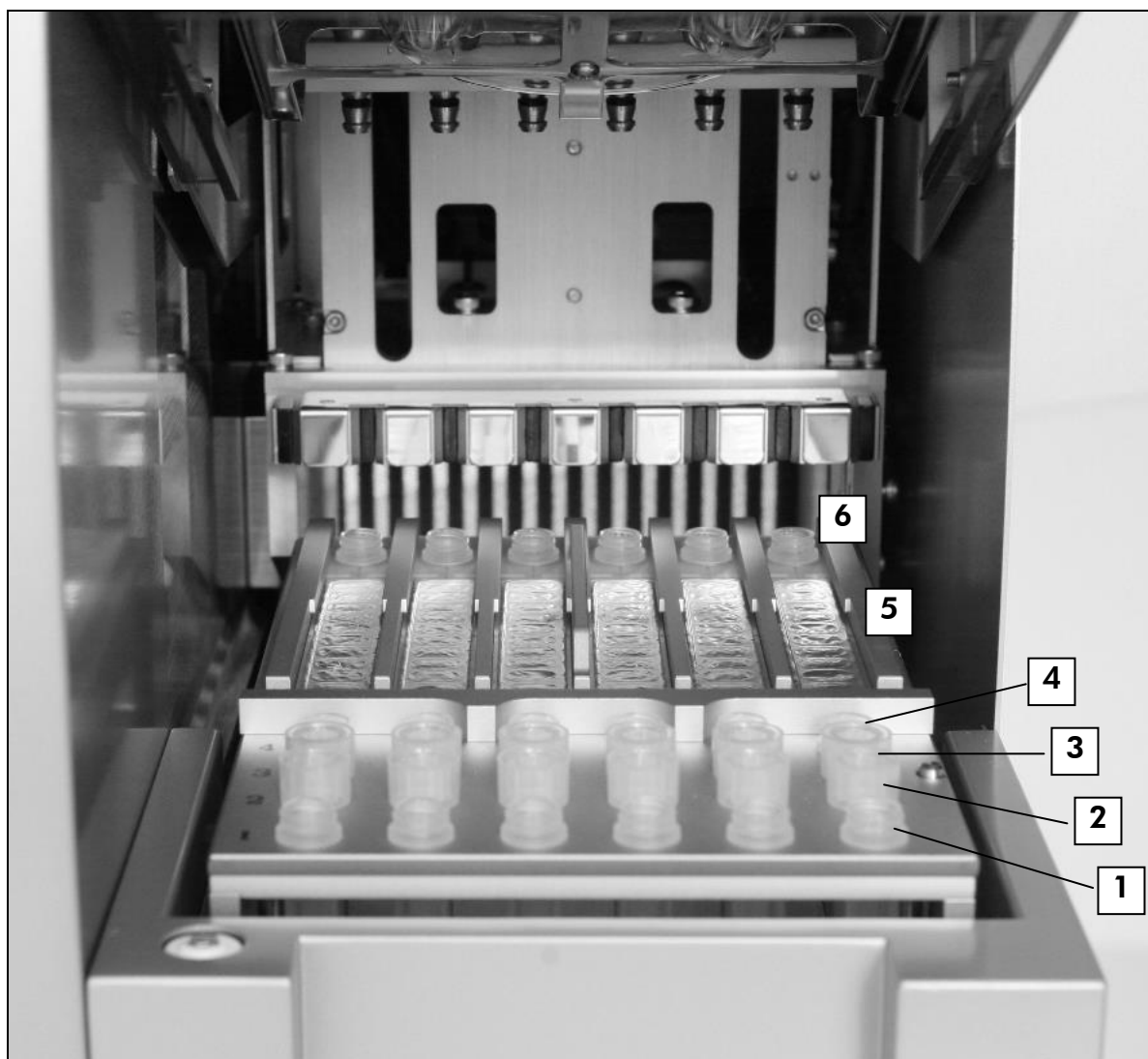
Figur 11. Nem opsætning af instrumentet ved brug af reagenspatroner (RCB). **A** En forsejlet, forfyldt reagenspatron (RCB). **B** Indsætning af reagenspatroner (RCB) i patronstativet. Selve patronstativet er mærket med en pil for at vise den retning patronerne (RCB) skal indsættes i.

Arbejdsbord

Arbejdsbordet til EZ1-instrumenter er dér, hvor brugeren indsætter prøver og komponenterne fra EZ1 DSP DNA Blood Kit (Figur 12, side 31).

Detaljer om arbejdsbordsopsætning vises på vacuumfluorescensskærmen (VFD) i EZ1 Advanced-, EZ1 Advanced XL- eller LCD-skærmen på BioRobot EZ1 DSP-kontrolpanelet, når brugeren starter arbejdsbordsopsætningen.

Instrumentskærmen viser også protokolstatus under den automatiserede oprensningssprocedure.



Figur 12. Arbejdsbord på et EZ1-instrument.

1. Elueringsrør (ET) (1,5 ml) indsat i første række.
2. Engangs filterspidsholdere (DTH) der indeholder engangs filterspidser (DFT), indsat i anden række.
3. Tredje række er tom for EZ1 DSP DNA Blood-protokollen. (Ekstraudstyr: Hvis de ekstra vasketrin med 80 % ethanol udføres, indsættes 2 ml rørende med 1800 μ l hver af 80 % ethanol i denne række)
4. Prøverør (ST) (2 ml), indsat i fjerde række.
5. Reagenspatroner (RCB), indsat i patronstativet.
6. Varmebløkken er tom for EZ1 DSP DNA Blood-protokollen.


Datasporing med EZ1 Advanced og EZ1 Advanced XL

EZ1 Advanced og EZ1 Advanced XL muliggør fuldstændig sporing af en lang række data for øget procedekontrol og driftssikkerhed. EZ1-kittets lot-nummer og udløbsdatoer indlæses i starten af protokollen ved hjælp af Q-kortets strejkode. Et bruger-ID og Q-kortets strejkode kan indstastes manuelt ved

brug af det numeriske tastatur, eller ved scanning af stregkoder med den håndholdte stregkodelæser. Prøve og analyseinformation kan eventuelt også indtastes ved protokollens start. Ved protokolskørslens afslutning udfærdiges der automatisk en rapportfil. EZ1 Advanced og EZ1 Advanced XL kan gemme op til 10 resultatfiler, og dataene kan overføres til en pc, eller udskrives direkte på en printer (for bestillingsinformation, se "Udstyr og reagenser som leveres af bruger", side 25).

For at kunne modtage rapportfilerne på en pc, skal EZ1 Advanced Communicator-softwaren installeres. Softwaren modtager rapportfilen og lagrer den i en mappe, som brugeren definerer. Efter at pc'en har modtaget rapportfilen, kan brugeren anvende og bearbejde filen med et LIMS (Laboratory Information Management System) eller et andet program. Et eksempel på en rapportfil er vist i Bilag D (side 3). I rapportfiler nævnes de 6 pipetteringskanaler på EZ1 Advanced, fra venstre mod højre, kanal A til F, eller de 14 pipetteringskanaler på EZ1 Advanced XL, fra venstre til højre, kanal 1-14.

Ved scanning af et bruger-ID eller Q-Card-stregkode med stregkodelæseren, bekræfter et bip data modtaget. Efter at informationerne er blevet vist i 2 sekunder, gemmes de automatisk, og næste skærmmeddelelse vises. Ved scanning af prøv-ID, analysekit-ID eller bemærkninger, bekræfter et bip data modtaget, informationerne vises, og en meddelelse opfordrer brugeren til at indlæse næste oplysning. Efter scanning af prove-ID, analysekit-ID og bemærkninger, trykkes der på "ENT" én gang for at bekræfte at de indlæste informationer er korrekte. Hvis en forkert stregkode for eksempel blev scannet for en af prøverne, trykkes der på "ESC", og derpå scannes alle prøvestregkoder på ny i overensstemmelse med skærminstruktionerne. For bruger-ID og bemærkninger kan tallene indtastes ved brug af det numeriske tastatur, eller man kan nemt frembringe sine egne stregkoder til at indkode disse tal.

 For datasporing startes altid med at indsætte prøver i position A på EZ1 Advanced, og position 1 på EZ1 Advanced XL. De resterende prøver anbringes efter hinanden i de næste åbne positioner på arbejdsbordet.

For detaljer vedrørende sporing ved brug af EZ1 Advanced Communicator-software, se brugermanualen til *EZ1 Advanced* eller *EZ1 Advanced XL*.

Arbejdsgang for EZ1 DSP DNA Blood-drift

Indsæt EZ1 DSP DNA Blood Card i EZ1-kortsprækken



Tænd for EZ1-instrumentet



Følg skærmmeddelelser for datasporing*



Følg skærmmeddelelserne for arbejdsbordsopsætning



Start protokollen



Indhent oprenset DNA



UV-dekontamination*

* Kun EZ1 Advanced og EZ1 Advanced XL.

Protokol: Oprensning af genomt DNA fra helblod ved brug af EZ1 Advanced XL

Vigtige anvisninger før start

- Hvis EZ1 DSP DNA Blood Kit anvendes for første gang, skal "Vigtige bemærkninger" på side 3 læses.
- Reagenspatronerne (RCB) indeholder guanidinsalte og er derfor ikke kompatible med blegemiddelholdige desinfektionsreagenser. Benyt passende sikkerhedsforanstaltninger, og brug handsker ved håndtering. Se sikkerhedsinformation på side 3.
- Udfør alle protokollens trin ved stuetemperatur (15-25°). Arbejd hurtigt under opsætningsproceduren.
- Undersøg kit-komponenterne for skader efter modtagelsen af kittet. Hvis reagenspatronerne (RCB) eller andre kit-komponenter er beskadigede, kontaktes QIAGENs tekniske service eller den lokale forhandler. I tilfælde af væskespild henvises til " Advarsler og forholdsregler" (side 7 og 8). Beskadigede reagenspatroner (RCB) eller andre kit-komponenter må ikke anvendes, da brugen af dem kan medføre dårlig kit-ydeevne.
- Det genome DNA-udbytte afhænger af antallet af hvide blodceller i prøven.

Ting der skal gøres før start

- Lysisbufferen i reagenspatronen (RCB) kan danne bundfald under opbevaring. Reagenspatronen skal afbalanceres til stuetemperatur (15–25 °C), før brug. Om nødvendigt genopløses dette ved opvarmning til 30–40°C, efterfulgt af placering ved stuetemperatur.
- Protokollen omfatter en mulighed for at udføre vask med 80 % ethanol i stedet for med bufferen, som leveres med reagenspatronen. Dette kan være en fordel ved visse efterfølgende anvendelser. Hvis denne mulighed vælges, anbringes 2 ml rør med 1800 µl hver af 80 % ethanol i tredje række på arbejdsbordet (se Figur 12, side 2). Til klargøring af 80 % ethanol, tilstrækkeligt for 14 prøver, tilføjes 6 ml nukleasefrit vand til 24 ml 100 % ethanol.* Følg instruktionerne i skærmeddelelserne.

* Anvend ikke denatureret alkohol som indeholder andre stoffer end methanol eller methylethylketon.

Procedure

1. Ækvilibér op til 14 helblodsprøver ved stuetemperatur.

i Sørg for at prøver der har været nedfrosset, er fuldstændigt optøet og ækvilibreret til stuetemperatur tilstrækkeligt længe til at være i ligevægt. Hvis prøver har været opbevaret ved 2–8°C, skal de også ækvilibreres til stuetemperatur. Før proceduren startes, skal temperaturen for alle prøver være 15–25°C for at sikre optimalt udbytte og optimal DNA-renhed.

2. Indsæt EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card helt ind i EZ1-kortsprækken på EZ1 Advanced XL.

3. Tænd for EZ1-instrumentet.

Kontakten er anbragt til venstre på instrumentets bagside.

4. Tryk på "START" for at starte protokollen og arbejdsbordopsætningen i EZ1 DSP DNA Blood-protokollen.

5. Følg vejledningen på skærmen for arbejdsbordopsætningen, valg af protokolvariable og datasporing.

6. Tryk på "1" eller "2" for at starte arbejdsbordopsætningen for 200 µl DSP-protokollen eller 350 µl-protokollen, henholdsvis.

7. Vælg elueringsvolumen: tryk på "1" for eluering i 50 µl; "2" for eluering i 100 µl; "3" for eluering i 200 µl.

8. Vælg om du ønsker at udføre de valgfrie vaske med 80 % ethanol.

Teksten sammenfatter følgende trin, som beskriver indsætning på arbejdsbordet.

9. Åbn instrumentets dør.

10. Vend reagenspatronerne (RCB) 4 gange for at opblende de magnetiske partikler. Derpå knipses patronerne (RCB) for at bringe reagenserne til bunden af brøndene.

11. Indsæt reagenspatronerne (RCB) i patronstativet.

i En reagenspatron (RCB) skubbes ind i patronstativet og trykkes ned indtil den er klikket på plads.

i For datasporing startes altid med at indsætte prøver i position 1 på EZ1 Advanced XL. De resterende prøver anbringes efter hinanden i de næste åbne positioner på arbejdsbordet.

Når muligheden for datasporing benyttes, skal det påses at prøve-ID kommer i samme rækkefølge som prøverne på arbejdsbordet, for at undgå datablanding.

12. Følg vejledningen på skærmen for yderligere opsætning af arbejdsbordet.

13. Luk døren på instrumentet.

14. Tryk på "START" for at starte protokollen.

15. Når protokollen afsluttes, viser skærmen "Protocol finished" (Protokol slut). Tryk på "ENT" for at udfærdige rapportfilen.

EZ1 Advanced XL kan gemme op til 10 rapportfiler. Rapportfiler kan udskrives direkte på en tilsluttet printer eller overføres til en computer.


16. Åbn instrumentets dør.

17. Fjern elueringsrørene der indeholder oprenset DNA, fra første række. Kassér affaldet fra prøvepræparationen.*

18. Ekstraudstyr: Følg vejledningen på skærmen for at udføre UV-dekontamination af arbejdsbordets flader.

19. Udfør proceduren for regelmæssig vedligeholdelse, som beskrevet i brugerhåndbogen der leveres med EZ1-instrumentet.

Regelmæssig vedligeholdelse skal udføres ved afslutningen af hver protokolkørsel. Den består i rengøring af perforeringsenheden og arbejdsbordets flader.

 Perforeringsenheden er skarp! Brug af dobbelthandsker anbefales.

20. For at køre endnu en protokol, trykkes der på "START", protokollens trin 1 og 2 udføres, hvorefter protokollen følges fra trin 5. Ellers trykkes der på "STOP" to gange for at vende tilbage til skærmens første billede, lukke instrumentets dør, og slukke EZ1-instrumentet. □

Trin 3-4 er ikke nødvendige når endnu en protokol skal køres. Spring disse trin over.

*Prøveaffald indeholder guanidinsalte og er derfor ikke kompatible med blegemidler. Se sikkerhedsinformation på side 3.

Protokol: Oprensning af genomt DNA fra helblod ved brug af EZ1 Advanced (med V2.0-kort)

Denne protokol er til brug med EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card V2.0, en opdateret version af det originale V1.0-kort. Ved brug af V1.0-kortet, følg "Protokol: Oprensning af genomt DNA fra helblod ved brug af EZ1 Advanced (med V1.0-kort)". Protokollen på V2.0-kortet omfatter tilføjende protokolmuligheder, der gør det muligt at anvende forskellige prøve-input og elueringsvolumenter, samt valgfrie vasketrin med 80 % ethanol. Protokollen på V2.0-kortet svarer til det originale V1.0-kort når der anvendes originale input og elueringsvolumener samt vaskebuffer.

i **Vigtige anvisninger før start**

- Hvis EZ1 DSP DNA Blood Kit anvendes for første gang, skal "Vigtige bemærkninger" på side 3 læses.
- Reagenspatronerne (RCB) indeholder guanidinsalte og er derfor ikke kompatible med blegemiddelholdige desinfektionsreagenser. Benyt passende sikkerhedsforanstaltninger, og brug handsker ved håndtering. Se sikkerhedsinformation på side 3.
- Udfør alle protokollens trin ved stuetemperatur (15-25°). Arbejd hurtigt under opsætningsproceduren.
- Undersøg kit-komponenterne for skader efter modtagelse af kittet. Hvis reagenspatronerne (RCB) eller andre kit-komponenter er beskadigede, kontaktes QIAGENs tekniske service eller den lokale forhandler. I tilfælde af væskespild henvises til " Advarsler og forholdsregler" (side 7 og 8). Beskadigede reagenspatroner (RCB) eller andre kit-komponenter må ikke anvendes, da brugen af dem kan medføre dårlig kit-ydeevne.
- Det genome DNA-udbytte afhænger af antallet af hvide blodceller i prøven.

Ting der skal gøres før start

- Lysisbufferen i reagenspatronen (RCB) kan danne bundfald under opbevaring. Reagenspatronen skal afbalanceres til stuetemperatur (15–25 °C), før brug. Om nødvendigt genopløses dette ved opvarmning til 30–40°C, efterfulgt af placering ved stuetemperatur.
- Protokollen omfatter en mulighed for at udføre vask med 80 % ethanol i stedet for med bufferen, som leveres med reagenspatronen. Dette kan være en fordel ved visse efterfølgende anvendelser. Hvis denne mulighed vælges, anbringes 2 ml rør med 1800 µl hver af 80 % ethanol i tredje række på arbejdsbordet (se Figur 12, side 31). Til klargøring af 80 % ethanol, tilstrækkeligt for 6 prøver, tilføjes 3 ml nukleasefrit vand til 12 ml 100 % ethanol.* Følg instruktionerne i skærmmeddelelserne.

Procedure

1. Ækvilibrer op til 6 helblodsprøver ved stuetemperatur.

i Sørg for at prøver der har været nedfrosset, er fuldstændigt optøet og ækvilibreret til stuetemperatur tilstrækkeligt længe til at være i ligevægt. Hvis prøver har været opbevaret ved 2–8°C, skal de også ækvilibreres til stuetemperatur. Før proceduren startes, skal temperaturen for alle prøver være 15–25°C for at sikre optimalt udbytte og optimal DNA-renhed.

- 2. Indsæt EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card (V2.0) helt ind i EZ1-kortsprækken på EZ1 Advanced.**
- 3. Tænd for EZ1-instrumentet.**

Kontakten er anbragt til venstre på instrumentets bagside.
- 4. Tryk på "START" for at starte protokollen og arbejdsbordopsætningen i EZ1 DSP DNA Blood-protokollen.**
- 5. Følg vejledningen på skærmen for arbejdsbordsopsætningen, valg af protokolvariable og datasporing.**
- 6. Tryk på "1" eller "2" for at starte arbejdsbordopsætningen for 200 µl DSP-protokollen eller 350 µl-protokollen, henholdsvis.**
- 7. Vælg elueringsvolumen: tryk på "1" for eluering i 50 µl; "2" for eluering i 100 µl; "3" for eluering i 200 µl.**
- 8. Vælg om du ønsker at udføre de valgfrie vaske med 80 % ethanol.**

Teksten sammenfatter følgende trin, som beskriver indsætning på arbejdsbordet.
- 9. Åbn instrumentets dør.**


* Anvend ikke denatureret alkohol som indeholder andre stoffer end methanol eller methylethylketon.
- 10. Vend 1-6 reagenspatronerne (RCB) 4 gange for at opblende de magnetiske partikler. Derpå knipses patronerne (RCB) for at bringe reagenserne til bunden af brøndene.**
- 11. Indsæt reagenspatronerne (RCB) i patronstativet.**
 - i** En reagenspatron (RCB) skubbes ind i patronstativet og trykkes ned indtil den er klikket på plads.
 - i** For datasporing startes altid med at indsætte prøver i position A på EZ1 Advanced. De resterende prøver anbringes efter hinanden i de næste åbne positioner på arbejdsbordet.

Når muligheden for datasporing benyttes, skal det påses at prøve-ID kommer i samme rækkefølge som prøverne på arbejdsbordet, for at undgå datablanding.
- 12. Følg vejledningen på skærmen for yderligere opsætning af arbejdsbordet.**
- 13. Luk døren på instrumentet.**
- 14. Tryk på "START" for at starte protokollen.**
- 15. Når protokollen afsluttes, viser skærmen "Protocol finished" (Protokol slut). Tryk på "ENT" for at udfærdige rapportfilen.**

EZ1 Advanced kan gemme op til 10 rapportfiler. Rapportfiler kan udskrives direkte på en tilsluttet printer eller overføres til en computer.

16. Åbn instrumentets dør.
17. Fjern elueringsrørene der indeholder oprenset DNA, fra første række. Kassér affaldet fra prøvepræparationen.*
18. Ekstraudstyr: Følg vejledningen på skærmen for at udføre UV-dekontamination af arbejdsbordets flader.
19. Udfør proceduren for regelmæssig vedligeholdelse, som beskrevet i brugerhåndbogen der leveres med EZ1-instrumentet.

Regelmæssig vedligeholdelse skal udføres ved afslutningen af hver protokolkørsel. Den består i rengøring af perforeringsenheden og arbejdsbordets flader.

 Perforeringsenheden er skarp! Brug af dobbelthandsker anbefales.

20. For at køre endnu en protokol, trykkes der på "START", protokollens trin 1 og 2 udføres, hvorefter protokollen følges fra trin 5. Ellers trykkes der på "STOP" to gange for at vende tilbage til skærmens første billede, lukke instrumentets dør, og slukke EZ1-instrumentet. □

Trin 3-4 er ikke nødvendige når endnu en protokol skal køres. Spring disse trin over.

*Prøveaffald indeholder guanidinsalte og er derfor ikke kompatible med blegemidler. Se sikkerhedsinformation på side 3.

Protokol: Oprensning af genomt DNA fra helblod ved brug af EZ1 Advanced (med V1.0-kort)

Denne protokol er til brug med EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card V2.0, en opdateret version af det originale V1.0-kort. Ved brug af V2.0-kortet, følg "Protokol: Oprensning af genomt DNA fra helblod ved brug af EZ1 Advanced (med V2.0-kort)", side 36.

Protokollen på V2.0-kortet omfatter tilføje protokolmuligheder, der gør det muligt at anvende forskellige prøve-input og elueringsvolumener, samt valgfrie vasketrin med 80 % ethanol. Protokollen på V2.0-kortet svarer til det originale V1.0-kort når der anvendes originale input og elueringsvolumener samt vaskebuffere.

Vigtige anvisninger før start

- Hvis EZ1 DSP DNA Blood Kit anvendes for første gang, skal "Vigtige bemærkninger" på side 3 læses.
- Reagenspatronerne (RCB) indeholder guanidinsalte og er derfor ikke kompatible med blegemiddelholdige desinfektionsreagenser. Benyt passende sikkerhedsforanstaltninger, og brug handsker ved håndtering. Se sikkerhedsinformation på side 2.
- Udfør alle protokollens trin ved stuetemperatur (15-25°). Arbejd hurtigt under opsætningsproceduren.
- Undersøg kit-komponenterne for skader efter modtagelse af kittet. Hvis reagenspatronerne (RCB) eller andre kit-komponenter er beskadigede, kontaktes QIAGENs tekniske service eller den lokale forhandler. I tilfælde af væskespild henvises til "Sikkerhedsinformation" (side 2). Beskadigede reagenspatroner (RCB) eller andre kit-komponenter må ikke anvendes, da brugen af dem kan medføre dårlig kit-ydeevne.
- Det genome DNA-udbytte afhænger af antallet af hvide blodceller i prøven.

Ting der skal gøres før start

- Lysisbufferen i reagenspatronen (RCB) kan danne bundfald under opbevaring. Om nødvendigt genopløses dette ved opvarmning til 30–40°C, efterfulgt af placering ved stuetemperatur.

Procedure

1. **Ækvilibrer op til 6 helblodsprøver ved stuetemperatur.**

i Sørg for at prøver der har været nedfrosset, er fuldstændigt optøet og ækvilibreret til stuetemperatur tilstrækkeligt længe til at være i ligevægt. Hvis prøver har været opbevaret ved 2–8°C, skal de også ækvilibreres til stuetemperatur. Før proceduren startes, skal temperaturen for alle prøver være 15–25°C for at sikre optimalt udbytte og optimal DNA-renhed.

2. **Indsæt EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card (V1.0) helt ind i EZ1-kortsprækken på EZ1 Advanced.**

3. **Tænd for EZ1-instrumentet.**

Kontakten er anbragt til venstre på instrumentets bagside.

4. **Tryk på "START" for at starte arbejdsbordsopsætningen i EZ1 DSP DNA Blood-protokollen.**

5. **Åbn instrumentets dør.**

6. **Vend 1-6 reagenspatronerne (RCB) 4 gange for at opblande de magnetiske partikler. Derpå knipses patronerne (RCB) for at bringe reagenserne til bunden af brøndene.**

7. **Følg vejledningen på skærmen for arbejdsbordsopsætningen, valg af protokolvariable og datasporing.**

i En reagenspatron (RCB) skubbes ind i patronstativet og trykkes ned indtil den er klikket på plads.

i For datasporing startes altid med at indsætte prøver i position A på EZ1 Advanced. De resterende prøver anbringes efter hinanden i de næste åbne positioner på arbejdsbordet.

Når muligheden for datasporing benyttes, skal det påses at prøve-ID kommer i samme rækkefølge som prøverne på arbejdsbordet, for at undgå datablanding.

8. **Luk døren på instrumentet.**

9. **Tryk på "START" for at starte protokollen.**

10. **Når protokollen afsluttes, viser skærmen "Protocol finished" (Protokol slut). Tryk på "ENT" for at udfærdige rapportfilen.**

EZ1 Advanced kan gemme op til 10 rapportfiler. Rapportfiler kan udskrives direkte på en tilsluttet printer eller overføres til en computer.


11. **Åbn instrumentets dør.**

12. **Fjern elueringsrørene der indeholder oprenset DNA, fra første række. Kassér affaldet fra prøvepræparationen.***

13. **Ekstraudstyr: Følg vejledningen på skærmen for at udføre UV-dekontamination af arbejdsbordets flader.**

14. Udfør proceduren for regelmæssig vedligeholdelse, som beskrevet i brugerhåndbogen der leveres med EZ1-instrumentet.

Regelmæssig vedligeholdelse skal udføres ved afslutningen af hver protokolkørsel. Den består i rengøring af perforeringsenheden og arbejdsbordets flader.

 Perforeringsenheden er skarp! Brug af dobbelthandsker anbefales.

15. For at køre endnu en protokol, trykkes der på "START", protokolens trin 1 og 2 udføres, hvorefter protokollen følges fra trin 5. Ellers trykkes der på "STOP" to gange for at vende tilbage til skærmens første billede, lukke instrumentets dør, og slukke EZ1-instrumentet. □

Trin 3-4 er ikke nødvendige når endnu en protokol skal køres. Spring disse trin over.

*Prøveaffald indeholder guanidinsalte og er derfor ikke kompatible med blegemidler. Se sikkerhedsinformation på side 7 og 8.

Protokol: Oprensning af genomt DNA fra helblod ved brug af BioRobot EZ1 DSP

i **Vigtige anvisninger før start**

- Hvis EZ1 DSP DNA Blood Kit anvendes for første gang, skal "Vigtige bemærkninger" på side 27 læses.
- Reagenspatronerne (RCB) indeholder guanidinsalte og er derfor ikke kompatible med blegemiddelholdige desinfektionsreagenser. Benyt passende sikkerhedsforanstaltninger, og brug handsker ved håndtering. Se sikkerhedsinformation på side 7 og 8.
- Udfør alle protokollens trin ved stuetemperatur (15-25°). Arbejd hurtigt under opsætningsproceduren.
- Undersøg kit-komponenterne for skader efter modtagelse af kittet. Hvis reagenspatronerne (RCB) eller andre kit-komponenter er beskadigede, kontaktes QIAGENs tekniske service eller den lokale forhandler. I tilfælde af væskespild henvises til " Advarsler og forholdsregler" (side 7 og 8). Beskadigede reagenspatroner (RCB) eller andre kit-komponenter må ikke anvendes, da brugen af dem kan medføre dårlig kit-ydeevne.
- Det genome DNA-udbytte afhænger af antallet af hvide blodceller i prøven.

Ting der skal gøres før start

- Lysisbufferen i reagenspatronen (RCB) kan danne bundfald under opbevaring. Reagenspatronen skal afbalanceres til stuetemperatur (15–25 °C), før brug. Om nødvendigt genopløses dette ved opvarmning til 30–40°C, efterfulgt af placering ved stuetemperatur.

Procedure

1. Ækvilibrer op til 6 helblodsprøver ved stuetemperatur.


i Sørg for at prøver der har været nedfrosset, er fuldstændigt optøet og ækvilibreret til stuetemperatur tilstrækkeligt længe til at være i ligevægt. Hvis prøver har været opbevaret ved 2–8°C, skal de også ækvilibreres til stuetemperatur. Før proceduren startes, skal temperaturen for alle prøver være 15–25°C for at sikre optimalt udbytte og optimal DNA-renhed.


2. Indsæt EZ1 DSP DNA Blood Card helt ind i EZ1-kortsprækken på BioRobot EZ1 DSP.

3. Tænd for EZ1-instrumentet.

Kontakten er anbragt til venstre på instrumentets bagside.


4. Tryk på "START" for at starte arbejdsbordopsætningen i EZ1 DSP DNA Blood-protokollen.
5. Åbn instrumentets dør.
6. Vend 1-6 reagenspatronerne (RCB) 4 gange for at opblande de magnetiske partikler. Derpå knipses patronerne (RCB) for at bringe reagenserne til bunden af brøndene.
7. Følg vejledningen på skærmen for arbejdsbordopsætningen og valg af protokolvariable.

 En reagenspatron (RCB) skubbes ind i patronstativet og trykkes ned indtil den er klikket på plads.

 Hvis der er færre end 6 reagenspatroner (RCB), kan de indsættes i vilkårlig rækkefølge i stativet. Når andet laboratorieudstyr indsættes, skal der dog sørges for at det sker i samme rækkefølge.

8. Luk døren på instrumentet.
9. Tryk på "START" for at starte protokollen.
Når protokollen afsluttes, viser skærmen "Protocol finished" (Protokol slut).
10. Åbn instrumentets dør.
11. Fjern elueringsrørene der indeholder oprenset DNA, fra første række. Kassér affaldet fra prøvepræparationen.*
12. Udfør proceduren for regelmæssig vedligeholdelse, som beskrevet i brugerhåndbogen der leveres med EZ1-instrumentet.

Regelmæssig vedligeholdelse skal udføres ved afslutningen af hver protokolkørsel. Den består i rengøring af perforeringsenheden og arbejdsbordets flader.

 Perforeringsenheden er skarp! Brug af dobbelthandsker anbefales.

13. For at køre endnu en protokol, trykkes der på "START", protokollens trin 1 og 2 udføres, hvorefter protokollen følges fra trin 5. Ellers trykkes der på "STOP" to gange for at vende tilbage til skærmens første billede, lukke instrumentets dør, og slukke EZ1-instrumentet. □

Trin 3-4 er ikke nødvendige når endnu en protokol skal køres. Spring disse trin over.

*Prøveaffald indeholder guanidinsalte og er derfor ikke kompatible med blegemidler. Se sikkerhedsinformation på side 3.

Fejlfinding

Denne fejlsfindingsguide kan være nyttig til at afhjælpe eventuelle problemer. For yderligere information henvises også til siden "Frequently Asked Questions" (Hyppigt stillede spørgsmål) hos vores Technical Support Center: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Derudover svarer personalet fra QIAGENS tekniske service gerne på spørgsmål vedrørende enten informationen og protokollerne i denne håndbog, eller prøve- og analyseteknologier (kontaktinformation: se bagsiden eller besøg www.qiagen.com).

Kommentarer og forslag

Generel håndtering

Fejlmeddelelse på
instrumentskærm

i Der henvises til brugerhåndbogen der leveres med EZ1-instrumentet.

Lavt DNA-udbytte

a) Magnetiske partikler
ikke helt resuspenderet

i Sørg for at resuspendere de magnetiske partikler grundigt før reagenspatronerne (RCB) indsættes i holderen.

b) Utilstrækkeligt reagens
opsuget

i Efter vending af reagenspatronerne (RCB) for at resuspendere de magnetiske partikler, er det vigtigt at banke let på patronerne (RCB) for at bringe reagenserne til bunden af brøndene.

c) Frosne blodprøver ikke
opblandet korrekt efter
optøning

i Optø frosne blodprøver i en inkubator* eller vandbad* ved 30–40°C under mild omrøring, for at sikre grundig blanding.

d) Synligt bundfald i
bunden af
reagenspatronernes
brønde

i Anbring reagenspatronerne (RCB) i en rysteinkubator og inkubér ved 30–40°C under forsigtig omrøring i op til 2 timer. Reagenspatronerne (RCB) må ikke anvendes hvis bundfaldet ikke genopløses.

* Sorg for, at instrumenterne blevet eftersat, vedligeholdt og kaliberet regelmæssigt i henhold til producentens anbefalinger.

DNA opfører sig ikke korrekt i efterfølgende anvendelser

- a) Utilstrækkeligt DNA anvendt til efterfølgende anvendelser ⓘ Kvantificér det oprensede DNA vha. spektrofotometrisk måling af absorbans ved 260 nm (se "Kvantificering af DNA", side 2).
- b) Overskydende DNA anvendt til efterfølgende anvendelser ⓘ Overskydende DNA kan inhibere visse enzymreaktioner. Kvantificér det oprensede DNA vha. spektrofotometrisk måling af absorbans ved 260 nm (se "Kvantificering af DNA", side 2).
- c) Inhibering af efterfølgende anvendelse ⓘ Visse efterfølgende anvendelser kan udvise overpræstationer hvis der udføres vask med 80 % ethanol i stedet for vask med buffere i reagenspatronerne. Denne valgmulighed er til rådighed ved brug af EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card V2.0 (se side 36) eller the EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card (se side 34).

Lavt A_{260}/A_{280} -forhold for oprensede nukleinsyrer

Absorbansmåling ved 320 nm ikke fratrukket absorbansmålinger, opnået ved 260 nm og 280 nm

ⓘ For at rette op på tilstedeværelsen af magnetiske partikler i eluatet, bør der udføres en absorbansmåling ved 320 m, og fratrækkes absorbansmålinger, opnået ved 260 nm og 280 nm

Bilag A: Skærmmeddelelser

Skærmmeddelelserne fra softwareprotokollen under arbejdsbordopsætningen, under protokolkørslen og efter protokolførslen, er anført i tabellerne 6-9. Numrene på de anførte meddelelser nedenfor svarer til numrene for meddelelserne, der vises af softwaren.

For generelle meddelelser på EZ1-instrumentets display, henvises til brugerhåndbogen, der leveres med EZ1-instrumentet.

Tabel 6. Meddelelser i EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood-protokollen

Meddelelse nr.	Meddelelses-type	EZ1 Advanced XL-meddelelsetekst
Ingen	Orientering	Date/time START: Run("Dato/tid START: Kørsel") 1.UV 2: Man 3: Test 4: Opsætning("1:UV 2:Manuelt 3: Test")
1	Orientering	EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Version 1.0
2	Datasporing	Enter user ID ENT: Next ("Indtast bruger-ID ENT: Næste")
3	Datasporing	Enter Q-Card bar code ENT: Next ("Indtast Q-Card stregkode ENT: Næste")
4	Orientering	Wrong kit! ("Forkert kit!") Please load DSP DNA Blood kit ENT: Tilbage ("Indsæt EZ1 DSP DNA Blood kit ENT: Tilbage")
5	Orientering	Kit expired! ("Kit udløbet!") MMYY: ("MMÅÅ:") ENT: Use new kit ESC: stop protocol ("ENT: Anvend nyt kit ESC: stop protokol")

6	Datasporing	Use Q-Card data with sample 1 to [X] Enter 1 to 14 ENT: Next ("Anvend Q-Card-datamed prøve nr. 1 to xx Enter 1 to 14 ENT:Næste")
---	-------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 6. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelses-type	EZ1 Advanced XL-meddelelsetekst
7	Datasporing	Do you want to process more samples with another kit lot ("Skal flere prøver behandles med et andet kit-lot") ENT: Ja, ESC: No ("ENT: Ja, ESC: Nej")
8	Datasporing	Do you want to add sample IDs? prøve-ID tilføjes?" ("Skal ENT: Ja ESC: No ("ENT: Ja, ESC: Nej")
9	Datasporing	Enter sample ID for sample no. [x] ("Indtast prøve-ID for prøve nr. [x]") ENT: Next ("ENT: Næste")
10	Datasporing	Do you want to check sample IDs? ("Skal prøve-ID'er kontrolleres?") ENT: Yes ESC: No ("ENT: Ja, ESC: Nej")
11	Datasporing	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next ("NED: Næste")

12	Datasporing	ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: Next, UP: Back ("NED: Næste, OP: Tilbage")
13	Datasporing	ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: Next, UP: Back ("NED: Næste, OP: Tilbage")
14	Datasporing	ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Next, UP: Back ("NED: Næste, OP: Tilbage")

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 6. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelses-type	EZ1 Advanced XL-meddelelsetekst
15	Datasporing	ID 13: ID 14: ESC: Rescan DOWN: Next, UP: Back ("ESC: Scan igen NED:Næste, OP: Tilbage")
16	Datasporing	Do you want to add assay information? ("Skal analyseinformation tilføjes?") ENT: Yes, ESC: No ("ENT: Ja, ESC: Nej")
17	Datasporing	Enter assay ID for sample no. [x] (" Indtast analyse-ID for prøve nr. [x]") ENT: Next ("ENT: Næste")
18	Datasporing	Do you want to check assay IDs? ("Skal analyse-ID'er kontrolleres?") ENT: Yes ESC: No ("ENT: Ja, ESC: Nej")

19	Datasporing	Do you want to add notes? der tilføjes bemærkninger?" ENT: Yes ESC: No ("ENT: Ja, ESC: Nej")	("Skal
20	Datasporing	Enter notes for sample no. [x] ("Indtast bemærkninger for prøve nr. [x]") ENT: Next ("ENT: Næste")	
21	Datasporing	Do you want to check notes? bemærkninger kontrolleres?" ENT: Yes ESC: No ("ENT: Ja, ESC: Nej")	("Skal
22	Orientering	Select protocol: ("Vælg protokol:") 1: 200 ul DSP Blood 2: 350 ul DSP Blood Choose 1 or 2("Vælg 1 eller 2")	

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 6. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelses-type	EZ1 Advanced XL-meddelellestekst	
23	Orientering	Select elutionVolume("Vælg elueringsvolumen:") 1: 50 ul 2: 100 ul 3: 200 ul	
24	Orientering	Pure ethanol wash? ("Ren ethanol vask?") Sample volume: ("Prøvevolumen:") No ("Nej") 2: Yes ("Ja") Choose 1 or 2("Ja Vælg 1 eller 2")	1:
25	Orientering	You have chosen:("Du har valgt:") [xxx]ul blood ("blod"), EtOH [xxx]ul elution ("eluering") ENT: Next ("Næste"), ESC: Back("Tilbage")	

26	Orientering	Load cartridges at same positions as samples ("Indsæt beholderne på samme positioner som prøven") ENT: Next ("Næste") , ESC: Back ("Tilbage")
27	Orientering	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row ("Indsæt elueringsrør (ET)(1,5ml) i første række") ENT: Next ("Næste"), ESC: Back ("Tilbage")
28	Orientering	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ("Indsæt filterspidsholdere (DTH) og spidser (DFT) i anden række") ENT: Next ("Næste"), Back ("Tilbage")
29	Orientering	Load 2ml tubes with 1800ul 80% EtOH into third row ("Indsæt 2ml rør med 1800ul 80% EtOh i tredje række") ENT: Next ("Næste"), ESC: Back ("Tilbage")
30	Orientering	Load 2ml tubes(ST) with sample into fourth row ("Indsæt 2ml rør med prøve i fjerde række") ENT: Next ("Næste"), ESC: Back ("Tilbage")

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 6. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelser-type	EZ1 Advanced XL-meddelelsetekst
31	Orientering	Load finished Close door and press START ("Indsætning afsluttet. Luk døren og tryk på START") ESC: Back ("Tilbage")
32	Orientering	Please close door ("Luk døren!") ENT: Next ("Næste")

33	Status	Protocol started ("Protokol startet")
34	Status	Piercing foil ("Peforerer folie") [x] of [x] min left (" [x] af [x] min tilbage")
35	Status	Collecting Elution Buffer ("Indsamler elueringsbuffer") [x] of [x] min left (" [x] af [x] min tilbage")
36	Status	Deliver at heat block ("Anbring ved varmeblok") [x] of [x] min left (" [x] af [x] min tilbage")
37	Status	Collecting Beads [x] of [x] min left ("Indsamler perler [x] af [x] min tilbage")
38	Status	Resuspension of Beads [x] of [x] min left ("Resuspension af perler [x] af [x] min tilbage")
39	Status	Collecting Lysis Buffer [x] of [x] min left ("Indsamler lysisbuffer [x] af [x] min tilbage")
40	Status	Mixing Lysate [x] of [x] min left ("Opblander lysat [x] af [x] min tilbage")

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 6. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelser-type	EZ1 Advanced XL-meddelelsetekst
41	Status	Collecting Beads ("Indsamler perler") [x] of [x] min left (" [x] af [x] min tilbage")

42	Status	DNA binding to Beads Magnetic separation [x] of [x] min left ("DNA-binding til perler Magnetisk separation [x] af [x] min tilbage")
43	Status	Wash 1 Magnetic separation ("Vask 1 Magnetisk separation") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
44	Status	Wash 2 Magnetic separation ("Vask 2 Magnetisk separation") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
45	Status	Wash 3 Magnetic separation ("Vask 3 Magnetisk separation") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
46	Status	Wash 4 Magnetic separation ("Vask 4 Magnetisk separation") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
47	Status	Rinse ("Skyller") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
48	Status	Check Temp. Set: ("Kontroller temperatur Indstil:") Cur: ("Aktuel:") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
49	Status	Elution ("Eluering") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
50	Orientering	Protocol finished! ("Protokol afsluttet!") ENT: Next ("Næste")

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 6. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelser-type	EZ1 Advanced XL-meddelelsetekst
51	Status	Transferringreport file Attempt no. ("Overfører rapportfil, forsøg nr.")
52	Ingen	
Ingen	Orientering	SEND REPORT Print out o.k.? ("Send rapportfil Udskrift o.k.?") 1: o.k. 2: not o.k. ("ikke o.k.") ESC: Back ("Tilbage")
53	Status	Report file sent ("Rapportfil sendt") ENT: Next ("Næste")
54	Status	Report file could not be sent ("Rapportfil kunne ikke sendes") ENT: Resend ("Send igen")
55	Orientering	Perform UV run? ("Udfør UV-kørsel?") ENT: Yes ("Ja") ESC: No ("Nej")
56	Orientering	Remove eluates and consumables from the worktable ("Fjern eluater og hjælpematerialer fra arbejdsbordet") ENT: Next ("Næste")
57	Orientering	UV lamps expire soon UV runs left: ("UV-lampe udløber snart UV- kørsler tilbage:") ENT: Next ("Næste")
58	Orientering	UV lamps are expired ("UV-lamper er udløbet") ENT: Next ("Næste") ESC: Abort ("Afbryd")

59	Orientering	UV decontamination. ("UV-dekontamination.") 20 to 60("Indtast 20 til 60") ENT: Next ("Næste")	Enter
----	-------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------	-------

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 6. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelses-type	EZ1 Advanced XL-meddelelsetekst
60	Orientering	UV decontamination time must be between 20-60 min ("UV-dekontamination skal være 20-60 min") ESC: Back ("Tilbage")
61	Orientering	UV lamp did not ignite! ("UV-lampe blev ikke tændt!") ESC: Back ("Tilbage")
62	Orientering	UV decontamination Total time: ("UV-dekontamination Samelt tid:") min Time left: ("Tid tilbage:") min
63	Status	Decontamination UV lamps cooling ("Dekontamination UV-lamper afkøler") Please stand by ("Vent venligst")
64	Orientering	Perform regular maintenance after each run ("Udfør regelmæssig vedligeholdelse efter hver kørsel") ESC: Main menu ("Hovedmenu")

Tabel 7. Meddelelse i EZ1 Advanced DSP DNA Blood-protokollen (V2.0)

Meddelelse nr.	Meddelelser-type	EZ1 Advanced meddelelsetekst (V2.0 protokol)
Ingen	Orientering	Date/time START:Run ("Dato/tid START:Kørsel") 1:UV 2:Man ("Manuel") 3:Test 4:Setup ("Opsætning") Key: ("Tast") START,1,2,3,4
1	Orientering	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Version 2.0
2	Datasporing	Enter user ID ("Indtast bruger-ID") ENT: Next ("Næste")
3	Datasporing	Enter Q-Card bar code ("Indtast Q-Card-stregkode") ENT: Next ("Næste")
4	Orientering	Wrong kit! ("Forkert kit!") Please load DSP DNA Blood kit ("Indsæt DSP DNA Blood kit") ENT: Back ("Tilbage")
5	Orientering	Kit expired! ("Kit udløbet!") MMYY: ("MMÅÅ:") ENT: Use new kit ("Anvend nyt kit") ESC: Stop protokol ("Stop protocol")
6	Datasporing	Use Q-Card data with sample 1 to [X] Enter 1 to 14 ("Anvend Q-Card data md prove 1 til [X] Indtast 1 til 14") ENT: Next ("Næste")
7	Datasporing	Do you want to process more samples with another kit lot ("Skal flere prøver behandles med et andet kit-lot") ENT: Yes ("Ja"), ESC: No ("Nej")

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 7. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelles- type	EZ1 Advanced meddelelsetekst (V2.0 protokol)	
8	Datasporing	Do you want to sample IDs? ("Skal prøve-ID tilføjes?") ENT: Yes ("Ja") ESC: No ("Nej")	add
9	Datasporing	Enter sample ID for sample no. [x] ("Indtast prøve-ID for prøve nr. [x]") ENT: Next ("Næste")	
10	Datasporing	Do you want to check sample IDs? ("Skal prøve-ID'er kontrolleres?") ENT: Yes ("Ja") ESC: No ("Nej")	
11	Datasporing	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: ("NED"): Next ("Næste")	
12	Datasporing	ID 4: ID 5: ID 6: ENT:Next("Næste"), Esc:Rescan ("Rescan")	
13	Ingen		
14	Ingen		
15	Ingen		
16	Datasporing	Do you want to add assay information? ("Skal analyseinformation tilføjes?") ENT: Yes ("Ja"), ESC: No ("Nej")	
17	Datasporing	Enter assay ID for sample no.[X] ("Indtast analyse-ID for prøve nr. [x]") ENT: Next ("Næste")	

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 7. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelser-type	EZ1 Advanced meddelelsetekst (V2.0 protokol)
18	Datasporing	Do you want to check assay IDs? ("Skal analyse-ID'er kontrolleres?") ENT: Yes ("Ja") ESC: No ("Nej")
19	Datasporing	Do you want to add notes? ("Skal der tilføjes bemærkninger?") ENT: Yes ("Ja") ESC: No ("Nej")
20	Datasporing	Enter notes for sample no. [x] ("Indtast bemærkninger for prøve nr. [x]") ENT: Next ("Næste")
21	Datasporing	Do you want to check notes? ("Skal bemærkninger kontrolleres?") ENT: Yes ("Ja") ESC: No ("Nej")
22	Orientering	Select protocol ("Vælg protocol") 1: 200ul DSP Blood 2: 350ul DSP Blood Choose 1 or 2 ("Vælg 1 eller 2")
23	Orientering	Select elution volume ("Vælg elueringsvolumen:") 1: 50ul 2: 100ul 3: 200ul
24	Orientering	Pure ethanol wash? ("Ren ethanol vask?") 1: No 2: Yes Choose 1 or 2 ("1:Nej 2:Ja Vælg 1 eller 2")
25	Orientering	You have chosen: ("Du har valgt:") [xxx]ul blood ("blod"), EtOH [xxx]ul elution ("eluering") ENT: Next ("Næste"), ESC: Back ("Tilbage")

Tabel fortsættes på næste side.

Table 7. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelses-type	EZ1 Advanced meddelelsetekst (V2.0 protokol)
26	Orientering	Load cartridges at same positions as samples ("Indsæt beholderne på samme positioner som prøven ") ENT: Next ("Næste"), ESC: Back ("Tilbage")
27	Orientering	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row ("Indsæt elueringsrør (ET)(1,5ml) i første række ") ENT: Next ("Næste"), ESC: Back ("Tilbage")
28	Orientering	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ("Indsæt filterspidsholdere (DTH) og spidser (DFT) i anden række") ENT: Next ("Næste"), ESC: Back ("Tilbage")
29	Orientering	Load 2ml tubes with 1800ul 80% EtOH into third row ("Indsæt 2ml rør med 1800ul 80% EtOh i tredje række") ENT: Next ("Næste"), ESC: Back ("Tilbage")
30	Orientering	Load 2ml tubes (ST) with sample into fourth row ("Indsæt 2ml rør med prøve i fjerde række") ENT: Next ("Næste"), ESC: Back ("Tilbage")
31	Orientering	Load finished Close door and press START ("Indsætning afsluttet. Luk døren og tryk på START") ESC: Back ("Tilbage")
32	Orientering	Please close door! ("Luk døren!") ENT: Next ("Næste")
33	Status	Protocol started ("Protokol startet")

34	Status	Piercing foil ("Peforerer folie") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
----	--------	-------------------------------------------------------------------------------------

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 7. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelser-type	EZ1 Advanced meddelelsetekst (V2.0 protokol)
35	Status	Collecting Elution Buffer ("Indsamler elueringsbuffer") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
36	Status	Deliver at heat block ("Anbring ved varmeblok") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
37	Status	Collecting Beads ("Indsamler perler") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
38	Status	Resuspension of Beads ("Resuspension af perler") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
39	Status	Collecting Lysis Buffer ("Indsamler lysisbuffer") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
40	Status	Mixing Lysate ("Opblander lysat") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
41	Status	Collecting Beads ("Indsamler perler") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
42	Status	DNA binding to Beads Magnetic separation [x] of [x] min left ("DNA-binding til perler Magnetisk separation [x] af [x] min tilbage")

43	Status	Wash 1 Magnetic separation ("Vask 1 Magnetisk separation") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
44	Status	Wash 2 Magnetic separation ("Vask 2 Magnetisk separation") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 7. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelser-type	EZ1 Advanced meddelelsetekst (V2.0 protokol)
45	Status	Wash 3 Magnetic separation ("Vask 3 Magnetisk separation") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
46	Status	Wash 4 Magnetic separation ("Vask 4 Magnetisk separation") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
47	Status	Rinse ("Skyller") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
48	Status	Check Temp. Set: ("Kontroller temperatur Indstil:") Cur: ("Aktuel:") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
49	Status	Elution ("Eluering") [x] of [x] min left ("[x] af [x] min tilbage")
50	Orientering	Protocol finished! ("Protokol afsluttet!") ENT: Next ("Næste")
51	Status	Transferring report file Attempt no. ("Overfører rapportfil, forsøg nr.")

52	Ingen	
Ingen	Orientering	SEND REPORT Print out o.k.? ("Send rapportfil Udskrift o.k.? 1=o.k 2=not o.k Key: ("1=o.k., 2=ikke o.k. Tast) 1, 2, ESC
53	Status	Report file sent ("Rapportfil sendt") ENT: Next ("Næste")
54	Status	Report file could not be sent ("Rapportfil kunne ikke sendes") ENT: Resend ("Send igen")

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 7. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelles-type	EZ1 Advanced meddelellestekst (V2.0 protokol)
55	Orientering	Perform UV run? ("Udfør UV-kørsel? ENT: Yes ("Ja"), ESC: No ("Nej")
56	Orientering	Remove eluates and consumables from the worktable ("Fjern eluater og hjælpe materialer fra arbejdsbordet") ENT: Next ("Næste")
57	Orientering	UV lamps expire soon UV runs left: ("UV-lampe udløber snart UV- kørsler tilbage:") ENT: Next ("Næste")
58	Orientering	UV lamps are expired ("UV-lamper er udløbet") ENT: Next ("Næste") ESC: Abort ("Afbryd")

59	Orientering	UV decontamination. ("UV-dekontamination.") 20 to 60 ("Indtast 20 til 60") ENT: Next ("Næste")	Enter
60	Orientering	UV decontamination time must be between 20-60 min ("UV-dekontamination skal være 20-60 min") Back ("Tilbage")	ESC:
61	Orientering	UV lamp did not ignite! ("UV-lampe blev ikke tændt!") ESC: Back ("Tilbage")	
62	Orientering	UV decontamination Total time: ("UV-dekontamination Samlet tid:") min Time left: ("Tid tilbage:") min	

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 7. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelses-type	EZ1 Advanced meddelelsetekst (V2.0 protokol)
63	Status	Decontamination UV lamps cooling ("Dekontamination UV-lamper afkøler") Please stand by ("Vent venligst")
64	Orientering	Perform regular maintenance after each run ("Udfør regelmæssig vedligeholdelse efter hver kørsel") ESC: Main menu ("Hovedmenu")

Tabel 8. Meddelelser i EZ1 Advanced DSP DNA Blood-protokollen (V1.0)

Meddelelse nr.	Meddelelser-type	EZ1 Advanced meddelelsetekst (V1.0 protokol)
Ingen	Orientering	Date/Time START: Run("Dato/tid START: Kørsel") 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup ("Opsætning") Key: ("Tast") START, 1, 2, 3, 4
1	Orientering	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Version 1.0
2	Datasporing	Scant/enter user ID ("Scan/indtast bruger-ID")
3	Datasporing	Scan/enter Q-Card bar code ("Scan/indtast Q-Card strekkode")
4	Orientering	Wrong kit! ("Forkert kit!") Please load EZ1 DSP DNA Blood ("Indsæt EX1 DSP DNA Blood") ENT: back ("tilbage")
5	Orientering	Kit expired ("Kit udløbet") ENT: Use new kit ("Anvend nyt kit") ESC: Stop protokol ("Stop protocol")
6	Datasporing	Use Q-Card data with sample no. 1 to Enter 1 to 6 ("Anvend Q-Card data med prove nr. 1 til Indtast 1 til 6")
7	Orientering	Do you want to process more samples with another kit lot ("Skal flere prøver behandles med et andet kit-lot") ENT: Yes ("Ja"), ESC: No ("Nej")
8	Datasporing	Do you want to add sample ID? ("Skal prøve-ID tilføjes?") ENT: Yes ("Ja") ESC: No ("Nej")
9	Datasporing	Scan/enter sample ID sample no. [x] ("Scan/indtast prøve ID prøve nr. [x]")

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 8. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelser-type	EZ1 Advanced meddelelsetekst (V1.0 protokol)
10	Datasporing	ID1: ID2: ID3: Next("Næste") =ENT
11	Datasporing	ID1: ID2: ID3: Next("Næste")=ENT, ID1-3=Up ("Op")
12	Datasporing	Do you want to add assay information? ("Skal analyseinformation tilføjes?") ENT: Yes ("Ja"), ESC: No ("Nej")
13	Datasporing	Scan/enter sample ID sample no. [x] ("Scan/indtast prøve ID prøve nr. [x]")
14	Datasporing	Do you want to make notes? ("Skal der tilføjes bemærkninger?") ENT: Yes ("Ja") ESC: No ("Nej")
15	Datasporing	Scan/enter notes sample no. [x] ("Scan/indtast bemærkninger til prøve nr. [x]")
16	Orientering	The protocol use Sample Volume: ("Protokollen bruger Prøvevolumen:") 350ul Elution Volume: ("Elueringsvolumen") 200ul Next=Any("Næste=Vilkårlig tast")
17	Orientering	Load cartridges at same positions as samples Next=Any, Prev=ESC ("Indsæt patronerne på samme positioner som prøver Næste=Vilkårlig tast, Foregående=ESC")

18	Orientering	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row Next=Any, Prev=ESC ("Indsæt elueringsrør (ET) (1,5 ml) i første række Næste=Vilkårlig tast, Foregående=ESC")
19	Orientering	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=ESC ("Indsæt filterspidsholdere (DTH) og spidser (DFT) i anden række Næste=Vilkårlig tast, Forrige=ESC")
20	Orientering	Leave third row empty Next=Any, Prev=Esc ("Lad tredje række være tom Næste=Vilkårlig tast, Foregående=Esc")

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 8. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelser- type	EZ1 Advanced meddelelsetekst (V1.0 protokol)
21	Orientering	Load 2.0 ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev=Esc ("Indsæt 2,0 ml rør (ST) med prøve i fjerde række Næste=Vilkårlig tast, Forrige=ESC")
22	Orientering	Loading finished. ("Indsætning afsluttet.") Close door and press START Prev=Esc ("Luk døren og tryk på START, Foregående=Esc")
23	Orientering	Please close door! ("Luk døren!")
24	Status	Protocol started ("Protokol startet")
25	Status	Piercing Foil ("Peforerer folie") [x] of 23 min left ("[x] af 23 min tilbage")
26	Status	Collecting Elution Buffer ("Indsamler elueringsbuffer") [x] of 23 min left ("[x] af 23 min tilbage")
27	Status	Deliver at Heat Block ("Anbring ved varmeblok") [x] of 23 min left ("[x] af 23 min tilbage")

28	Status	Collecting Magnetic Beads ("Indsamler magnetiske perler") [x] of 23 min left ("[x] af 23 min tilbage")
29	Status	Resuspension of Magnetic Beads ("Resuspension af magnetiske perler") [x] of 23 min left ("[x] af 23 min tilbage")
30	Status	Adding Lysis Buffer ("Tilføjer lysisbuffer") [x] of 23 min left ("[x] af 23 min tilbage")
31	Status	Mixing Lysate ("Opblander lysat") [x] of 23 min left ("[x] af 23 min tilbage")
32	Status	Adding Magnetic Beads ("Tilføjer magnetiske perler") [x] of 23 min left ("[x] af 23 min tilbage")
33	Status	DNA binding to Magnetic Beads ("DNA-binding til magnetiske perler") Magnetic separation ("Magnetisk separation") [x] of 23 min left ("[x] af 23 min tilbage")

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 8. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelser-type	EZ1 Advanced meddelelsetekst (V1.0 protokol)
34	Status	Wash 1 ("Vask 1") Magnetic separation ("Magnetisk separation") [x] of 23 min left ("[x] af 23 min tilbage")
35	Status	Wash 2 ("Vask 2") Magnetic separation ("Magnetisk separation") [x] of 23 min left ("[x] af 23 min tilbage")
36	Status	Wash 3 ("Vask 3") Magnetic separation ("Magnetisk separation") [x] of 23 min left ("[x] af 23 min tilbage")

37	Status	Wash 4 ("Vask 3") Magnetic separation ("Magnetisk separation") [x] of 23 min left ("[x] af 23 min tilbage")
38	Status	Rinse ("Skyller") [x] of 23 min left ("[x] af 23 min tilbage")
39	Status	Checking Temperature Set: ("Kontrollerer temperature Indstil:") Cur: ("Aktuel:")
40	Status	Elution ("Eluering") [x] of 23 min left ("[x] af 23 min tilbage")
41	Orientering	Protocol finished ("Protokol afsluttet")
42	Datasporing	Transfer Report file, attempt no. ("Overfør rapportfil, forsøg nr.")
43	Orientering	Report file sent ("Rapportfil sendt") Next ("Næste")=ENT
44	Orientering	Could not send report file ("Rapportfil kunne ikke sendes") Resend ("Send på ny")=ENT

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 8. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelses-type	EZ1 Advanced meddelellestekst (V1.0 protokol)
45	Orientering	Perform UV run? ("Udfør UV-kørsel?") ENT: Yes ("Ja") ESC: No ("Nej")
46	Orientering	UV Decontamination ("UV-dekontamination"). Set time ("Sæt tid") min Key: ("Tast:") 0-9, ENT

47	Orientering	UV lamp expires soon UV runs left ENT= continue ("UV-lampe udløber snart UV-kørsler tilbage ENT=fortsæt")
48	Orientering	UV lamp is expired ENT=continue ESC=abort ("UV-lampe er udløbet ENT=fortsæt ESC=afbryd")
49	Orientering	UV DECONTAMINATION Time must be between 20-60 min Key:ESC ("UV-DEKONTAMINATION Tiden skal være 20- 60 min Tast:ESC")
50	Orientering	UV DEKONTAMINATION ("UV- dekontamination"). Total Time: ("Samlet tid") min Time left: ("Tid tilbage:") min
51	Orientering	Decontamination UV lamp cooling Please stand by ("Dekontamination UV-lampe afkøler Vent venligst")
52	Orientering	Perform regular maintenance before next run! ("Udfør regelmæssig vedligeholdelse før næste kørsel!") ESC=Main menu ("Hovedmenu")

Tabel 9. Meddelelser i BioRobot EZ1 DSP DNA Blood-protokollen

Meddelelse nr.	Meddelelser-type	BioRobot EZ1 DSP-meddelelsetekst
Ingen	Orientering	Choose button: ("Vælg knap:") START: Protocols("Protokoller") 1.: Tools ("Værktøjer") 2 : Tests ("Tests")
1	Orientering	EZ1 DSP DNA Blood Version 1.0.0
2	Orientering	The protocol use Sample Volume: ("Protokollen bruger Prøvevolumen:") [SampleVolume]ul Elution Volume: ("Elueringsvolumen:") [ElutionVolume]ul Next=Any ("Næste=Vilkårlig tast")
3	Orientering	Load sufficient cartridges (RCB) for samples Next=Any, Prev=ESC ("Indsæt tilstrækkelige patroner (RCB) for prøver Næste=Vilkårlig tast, Foregående=ESC")
4	Orientering	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row Next=Any, Prev=ESC ("Indsæt elueringsrør (ET) (1,5 ml) i første række Næste=Vilkårlig tast, Foregående=ESC")
5	Orientering	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=ESC ("Indsæt filterspidsholdere (DTH) og spidser (DFT) i anden række Næste=Vilkårlig tast, Forrige=ESC")
6	Orientering	Leave third row empty Next=Any, Prev=Esc ("Lad tredje række være tom Næste=Vilkårlig tast, Foregående=Esc")
7	Orientering	Load 2.0 ml sample tubes (ST) into fourth row Next=Any, Prev=ESC ("Indsæt 2,0ml rør (ST) med prøve i fjerde række Næste=Vilkårlig tast, Forrige=ESC ")

8	Orientering	Start protocol Press START Prev=ESC ("Start protokol, Tryk START, Foregående=ESC")
9	Status	Protocol started ("Protokol startet")
10	Status	Piercing Foil ("Peforerer folie")
11	Status	Collecting Elution Buffer ("Indsamler elueringsbuffer")
12	Status	Deliver at Heat Block ("Anbring ved varmeblok")
13	Status	Collecting Magnetic Beads ("Indsamler magnetiske perler")
14	Status	Resuspension of Magnetic Beads ("Resuspension af magnetiske perler")

Tabel fortsættes på næste side.

Tabel 9. Fortsat

Meddelelse nr.	Meddelelser-type	BioRobot EZ1 DSP-meddelelsetekst
15	Status	Adding Lysis Buffer ("Tilføjer lysisbuffer")
16	Status	Mixing Lysate ("Opblander lysat")
17	Status	Adding Magnetic Beads ("Tilføjer magnetiske perler")
18	Status	DNA binding to Magnetic Beads Magnetic Separation ("DNA-binding til magnetiske perler Magnetisk separation")
19	Status	Wash 1 Magnetic Separation ("Vask 1 Magnetisk separation")
20	Status	Wash 2 Magnetic Separation ("Vask 2 Magnetisk separation")

21	Status	Wash 3 Magnetic Separation ("Vask 3 Magnetisk separation")
22	Status	Wash 4 Magnetic Separation ("Vask 4 Magnetisk separation")
23	Status	Rinse ("Skyller")
24	Status	Checking Temperature Set: ("Kontrollerer temperatur Indstil:") 65 [deg] ("[grad]") Cur: ("Aktuel:") [deg] ("[grad]")
25	Status	Elution ("Eluering")
26	Orientering	Protocol finished! ("Protokol afsluttet!") Press ESC to return to Menu ("Tryk ESC for at gå tilbage til Menu")

Bilag B: Opbevaring, kvantificering og bestemmelse af DNA-renhed

Opbevarelse af DNA

Oprenset DNA kan opbevares ved 2–8°C eller ved –20°C i op til 24 måneder. For udvidet arkivering, skal eluater opbevares ved –70°C.

Kvantificering af DNA

DNA-koncentrationen bestemmes ved at måle absorbansen ved 260 nm (A_{260}) i et spektrofotometer. Absorbansmålinger ved 260 nm bør ligge mellem 0,1 og 1,0 for at være nøjagtige. En absorbans på 1 enhed ved 260 nm svarer til 50 µg DNA pr. milliliter ($A_{260}=1 \rightarrow 50 \mu\text{g/ml}$). Anvend buffer af neutral pH (f.eks. 10 mM Tris·Cl,* pH 7,0) til at fortynde prøverne og til at kalibrere spektrofotometret.[†] Overførsel af magnetiske partikler i eluatet kan påvirke A_{260} -målingen, men burde ikke påvirke DNA-ydelsen i efterfølgende anvendelser. Hvis det oprensede DNA skal analyseres ved hjælp af fluorescent kapilær sekventering, skal røret der indeholder eluatet først anbringes i en egnet magnetisk separator, og eluatet overføres til et rent rør (se nedenfor).

For at kvantificere isoleret DNA ved brug af EZ1-systemet:

- Anbring røret der indeholder DNA i en egnet magnetisk separator (f.eks. QIAGEN 12-Tube Magnet, katalognr. 36912) i 1 minut. Hvis ikke en egnet magnetisk separator er til rådighed, centrifugeres røret med DNA ved maksimalt omdrejningstal i 1 minut i en mikrocentrifuge for at pelletere alle resterende magnetiske partikler.
- Efter separationen er udført, udtrækkes forsigtigt 10–50 µl isoleret DNA og fortyndes til en endelig volumen på 100 µl i buffer af neutral pH.
- Mål absorbansen ved 320 nm og 260 nm. Fratræk absorbansmålingen, opnået ved 320 nm fra målingen, opnået ved 260 nm, for at korrigere forekomsten af magnetiske partikler.

Koncentration af DNA-prøve = $50 \mu\text{g/ml} \times (A_{260} - A_{320}) \times \text{fortyndingsfaktor}$

Samlet mængde isoleret DNA = koncentration x volumen af prøve i milliliter.

DNA-renhed

Renhed bestemmes ved beregning af forholdet af korrigeret absorbans ved 260 nm til korrigeret absorbans ved 280 nm, dvs. $(A_{260} - A_{320}) / (A_{280} - A_{320})$. Ren DNA har et $A_{260} - A_{280}$ -forhold på 1,7–1,9. Anvend buffer med let alkalisk pH (f.eks. 10 mM Tris·Cl, pH 7,5) til at fortynde prøverne og til at kalibrere

[†] Hvis prøverne ikke er fortyndede, anvendes vand til at kalibrere spektrofotometret.

spektrofotometret.* Hvis prøverne ikke fortyndes, anvendes vand til at kalibrere spektrofotometret.

* Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Flere informationer findes i de tilsvarende sikkerhedsdatablade (material safety data sheets MSDS), som kan fås hos den pågældende leverandør.

Bilag C: Prøveark til brug sammen med EZ1 DSP DNA Blood-systemet

Denne prøvearkskabelon kan være nyttig til opbevaring af analyseresultater ved brug af EZ1 DSP DNA Blood-proceduren. Dette ark kan fotokopieres og forsynes med beskrivelser af prøverne og detaljer om kørslen.

EZ1 DSP DNA Blood system

Dato/tid: _____ Kit-lot-nummer: _____

Operatør: _____ Kørsels-ID: _____

Instrumentets serienummer: _____

Position på arbejdsbord	Prøve-ID	Prøve-materiale	RCB tilgængelig?	ST tilgængelig?	ET tilgængelig?	DTH med DFT tilgængelig?
1 (venstre)						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						

14 (højre)

Bilag D: Eksempel på en EZ1 Advanced-rapportfil

Dette bilag viser en typisk rapportfil, frembragt på EZ1 Advanced. Værdierne for hvert parameter vil være forskellige fra den rapportfil, der fremkommer på brugerens EZ1 Advanced. Rapportfiler frembragt på EZ1 Advanced XL viser tilsvarende information og afviger kun ved antallet af kanaler.

Rapportfil EZ1 Advanced:

Serie-nr. EZ1 Advanced:,"6987"

Bruger-ID:,"555"

Firmware version:,"V 1.0.0"

Installationsdato for instrumentet:,"Okt 05, 2007"

Ugentlig vedligeholdelse udført:,"29. juli 2009"

Ugentlig vedligeholdelse udført:,"24 mar 2009"

Dato for sidste UV-kørsel:,"31. mar, 2009"

Start af sidste UV-kørsel:,"10:59"

Afslutning af sidste UV-kørsel:,"10:59"

Status for sidste UV-kørsel:,"o.k. "

Protokolnavn:,"DSP DNA Blood Version 2.0"

,"DSP DNA Blood 350"

Dato for kørsel:,"05. aug, 2009"

Start af kørsel:,"07:58"

Afslutning af kørsel:,"08:28 "

Status kørsel:,"o.k. "

Fejlkode:,"---"

Prøve input-volumen [ul]:,"350"

Elueringsvolumen [ul]:,"200"

Kanal A:

Prøve-ID:,"1"

Reagens kit-nummer:,"9900801"

Reagens lot-nummer:,"0133203571"

Reagens udløbsdato:,"1209"

Analysekit-ID:,"1"

Bemærkning:,"1"

Kanal B:

Prøve-ID:,"2"

Reagens kit-nummer:,"9900801"

Reagens lot-nummer:,"0133203571"

Reagens udløbsdato:,"1209"

Analysekit-ID:,"2"

Bemærkning:,"2"

Kanal C:

Prøve-ID:,"3"

Reagens kit-nummer:,"9900801"

Reagens lot-nummer:,"0133203571"

Reagens udløbsdato:,"1209"

Analysekit-ID:,"3"

Bemærkning:,"3"

Kanal D:

Prøve-ID:,"4"
Reagens kit-nummer: ,"9900801"
Reagens lot-nummer: ,"0133203571"
Reagens udløbsdato: ,"1209"
Analysekit-ID: ,"4"
Bemærkning:,"4"

Kanal E:
Prøve-ID:,"5"
Reagens kit-nummer: ,"9900801"
Reagens lot-nummer: ,"0133203571"
Reagens udløbsdato: ,"1209"
Analysekit-ID: ,"5"
Bemærkning:,"5"

Kanal F:
Prøve-ID:,"6"
Reagens kit-nummer: ,"9900801"
Reagens lot-nummer: ,"0133203571"
Reagens udløbsdato: ,"1209"
Analysekit-ID: ,"6"
Bemærkning:,"6"

[Checksum A0C47444]

Bestillingsinformationer

Produkt	Indhold	Kat. nr.
EZ1 DSP DNA Blood Kit (48)	Til 48 DNA-præparationer: Forfyldte reagenspatroner, engangs filterspidsholdere, engangsfilterspidser, prøverør, elueringsrør	62124
EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card	Forprogrammeret kort til EZ1 DSP DNA Blood-protokol; til brug sammen med EZ1 Advanced XL-instrumentet	9018702
EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card	Forprogrammeret kort til EZ1 DSP DNA Blood-protokol; til brug sammen med EZ1 Advanced-instrumentet	9018305
EZ1 DSP DNA Blood Card	Forprogrammeret kort til EZ1 DSP DNA Blood-protokol; til brug sammen med BioRobot EZ1 DSP-instrumentet	9017713
EZ1 Advanced XL	Robot-instrument til automatiseret oprensning af nukleinsyrer ved brug af EZ1-kits, 1 års garanti på dele og arbejde*	9001492

Besøg www.qiagen.com/products/assays for at finde mere om analyseteknologier fra QIAGEN!

Se den henholdsvis QIAGEN kit-håndbog eller brugermanual vedrørende opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser. QIAGEN kit-håndbøger og brugermanualer kan fås på www.qiagen.com, eller der kan forespørges om disse fra QIAGENS tekniske service eller den lokale forhandler.

Denne side er med vilje tom

Denne side er med vilje tom

Varemærker: QIAGEN®, artus®, BioRobot®, EZ1®, QuantiTect® (QIAGEN Group); BD Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); LightCycler® (Roche Group); Monovette® (Sarstedt AG & Co.); Vacuette® (C.A. Greiner & Söhne GmbH).

Aftale om begrænset licens

Brug af dette produkt betyder at enhver køber eller bruger af EZ1 DSP DNA Blood Kit accepterer følgende vilkår:

1. EZ1 DSP DNA Blood Kit må kun bruges i overensstemmelse med Håndbog til EZ1 DSP DNA Blood Kit, og kun med de komponenter der følger med kittet. QIAGEN giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkorporere komponenterne i dette kit med komponenter, der ikke er inkluderet i dette kit, undtagen som beskrevet i Håndbog til EZ1 DSP DNA Blood Kit og yderligere protokoller, som er tilgængelige på www.qiagen.com.
2. Udover de udtrykkeligt givne licenser giver QIAGEN ingen garanti for at dette kit og/eller brugen af det ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Dette kit og dets komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, genoprettes eller videresælges.
4. QIAGEN afviser specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køberen og brugeren af kittet indvilliger i ikke at tage, eller lade andre tage, skridt, der kunne føre til, eller fremme, handlinger der forbydes ovenfor. QIAGEN kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale i enhver ret, og vil inddrive alle undersøgelses- og retsomkostninger, herunder advokatsalær, i ethvert spørgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle dens intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med kittet og/eller komponenterne deri.

For opdaterede licensbetingelser henvises til www.qiagen.com.

QuantiTect Probe PCR Kit: BEMÆRKNING TIL KØBER: BEGRÆNSET LICENS

En licens til at udføre 5' nukleaseproces til forskning kræver anvendelsen af et licenseret 5' Nuclease Kit (der indeholder licenseret probe), eller kombinationen af et autoriseret 5' Nuclease Core Kit plus Licensed Probe, eller licensrettigheder der kan købes hos Applied Biosystems. Dette produkt er et autoriseret 5' Nuclease Core Kit uden licenseret probe. Købsprisen inkluderer en begrænset, ikke-overførbart immunitet under US-patentnumre 5,210,015, 5,487,972, 5,476,774, and 5,219,727, og tilsvarende patentkrav udenfor USA, ejet af Roche Molecular Systems, Inc. eller F. Hoffmann-La Roche Ltd (Roche), kun for brug af denne mængde af produktet i praksis med 5' nukleaseproces udelukkende for køberens egen interne forskning, ved brug i forbindelse med licenseret probe. Dette produkt er også et autoriseret 5' Nuclease Core Kit til brug med service under licenser, tilgængelige fra Applied Biosystems. Dette produkt tilføjes ingen rettigheder US-patentnumre 5,804,375, 6,214,979, 5,538,848, 5,723,591, 5,876,930, 6,030,787, eller 6,258,569, eller tilsvarende patenter udenfor USA, udtrykkeligt, ved implikation eller ved standsning. Ingen andre rettigheder under andre patentkrav (såsom apparat- eller system krav i US-patentnr. 6.814.934) og ingen rettigheder til at udføre kommerciel service af nogen form, inklusive uden begrænsning, rapportering af resultaterne af køberens aktiviteter for et gebyr eller anden kommerciel overvejelse, er hermed bevilget, udtrykkeligt, ved implikation eller ved standsning. Dette produkt er kun beregnet til forskning. Diagnostisk anvendelse kræver en separate licens fra Roche. Yderligere information om købslicenser kan fås ved at kontakte direktøren for licenser, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA.

HB-0252-003 © 2009-2015 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdt.

www.qiagen.com

Australien ■ Bestilling 03-9840-9800 ■ Fax 03-9840-9888 ■ Teknisk 1-800-243-066

Østrig ■ Bestilling 0800/28-10-10 ■ Fax 0800/28-10-19 ■ Teknisk 0800/28-10-11

Belgien ■ Bestilling 0800-79612 ■ Fax 0800-79611 ■ Teknisk 0800-79556

Brasilien ■ Bestilling 0800-557779 ■ Fax 55-11-5079-4001 ■ Teknisk 0800-557779

Canada ■ Canada 800-572-9613 ■ Fax 800-713-5951 ■ Teknisk 800-DNA-PREP (800-362-7737)

Kina ■ Bestilling 021-3865-3865 ■ Fax 021-3865-3965 ■ Teknisk 800-988-0325

Danmark ■ Bestilling 80-885945 ■ Fax 80-885944 ■ Teknisk 80-885942

Finland ■ Bestilling 0800-914416 ■ Fax 0800-914415 ■ Teknisk 0800-914413

Frankrig ■ Bestilling 01-60-920-926 ■ Fax 01-60-920-925 ■ Teknisk 01-60-920-930 ■ Tilbud 01-60-920-928

Tyskland ■ Bestilling 02103-29-12000 ■ Fax 02103-29-22000 ■ Teknisk 02103-29-12400

Hong Kong ■ Bestilling 800 933 965 ■ Fax 800 930 439 ■ Teknisk 800 930 425

Ireland ■ Bestilling 1800 555 049 ■ Fax 1800 555 048 ■ Teknisk 1800 555 061

Italien ■ Bestilling 02-33430-420 ■ Fax 02-33430-426 ■ Teknisk 800-787980

Japan ■ Telefon 03-6890-7300 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Teknisk 03-6890-7300

Sydkorea ■ Bestilling 1544 7145 ■ Fax 1544 7146 ■ Teknisk 1544 7145

Luxembourg ■ Bestilling 8002-2076 ■ Fax 8002-2073 ■ Teknisk 8002-2067

Mexico ■ Bestilling 01-800-7742-639 ■ Fax 01-800-1122-330 ■ Teknisk 01-800-7742-639

Nederlandene ■ Bestilling 0800-0229592 ■ Fax 0800-0229593 ■ Teknisk 0800-0229602

Norge ■ Bestilling 800-18859 ■ Fax 800-18817 ■ Teknisk 800-18712

Singapore ■ Bestilling 65-67775366 ■ Fax 65-67785177 ■ Teknisk 65-67775366

Spanien ■ Orders 91-630-7050 ■ Fax 91-630-5145 ■ Teknisk 91-630-7050

Sverige ■ Bestilling 020-790282 ■ Fax 020-790582 ■ Teknisk 020-798328

Schweiz ■ Bestilling 055-254-22-11 ■ Fax 055-254-22-13 ■ Teknisk 055-254-22-12

UK ■ Bestilling 01293-422-911 ■ Fax 01293-422-922 ■ Teknisk 01293-422-999

USA ■ Bestilling 800-426-8157 ■ Fax 800-718-2056 ■ Teknisk 800-DNA-PREP (800-362-7737)

