



2024년 7월

제품 설명서

QIAcuityDx[®] Universal MasterMix Kit

버전 1

IVD

체외 진단용

실험실용



REF

260101, 260102



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 독일

R1

MAT

1134829KO

목차

키트 내용물	3
배송 및 보관	4
사용 중 안정성.....	4
용도.....	5
활성 성분.....	5
기호.....	6
안전성 정보	8
Universal MasterMix	9
비상 정보.....	9
설명 및 원리	10
시작 전 참고 사항	11
절차.....	13
폐기.....	17
정도 관리.....	18
제한 사항.....	19
문제 해결.....	20
주문 정보.....	23
문서 개정 이력.....	24

키트 내용물

카탈로그 번호 키트	260101 1mL	260102 5mL
QIAcuityDx Universal MasterMix	1 x 1180 μ L	5 x 1180 μ L
MgCl ₂ , 200mM(염화마그네슘, 200mM)	1 x 1000 μ L	2 x 1000 μ L
RNase-free water(탈핵산분해효소수)	2 x 1.9mL	5 x 1.9mL

배송 및 보관

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit는 드라이아이스와 함께 배송됩니다. 이는 수령 즉시 -30~-15°C의 항온 냉동고에 보관해야 합니다. 패키지 도착 시 QIAcuityDx Universal MasterMix Kit의 구성품 중 어느 것이라도 동결된 상태가 아니거나, 운송 중 외부 포장이 개봉되었거나, 배송물에 포장 명세서 또는 시약이 들어 있지 않은 경우 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체로 문의하십시오(www.qiagen.com 방문).

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit는 올바르게 보관하는 경우 라벨에 인쇄된 유효 기한까지 안정적입니다.

명시된 사양을 벗어나는 조건에서 보관되었거나, 포장이 손상되었거나, 기타 열화 또는 오작동의 징후가 보이는 경우에는 사용하지 마십시오.

사용 중 안정성

개봉한 시약은 포장에 표시된 유효 기한까지 -30~-15°C에서 원래 포장에 넣어 보관할 수 있습니다. 해동과 동결을 반복해서는 안 됩니다. 최대 5회의 동결-해동 사이클을 초과하지 마십시오.

시약은 사용하기 전 최대 30분 동안 실온(15~25°C)에서 해동해야 합니다.

용도

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit는 검증된 진단 검사 절차의 일부로 관련 분석별 시약과 함께 QIAcuityDx Four 기기에서 사용할 수 있는 즉시 사용 가능한 범용 dPCR 마스터 믹스 시약 세트입니다.

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit는 자동화된 장치가 아니며, 숙련된 인력이 실험실에서 사용하기 위한 제품입니다.

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit는 *체/외* 진단용입니다.

실험실에서 사용되지만 QIAGEN 성능 연구에서 다루지 않는 모든 절차에 대해 시스템 성능을 검증하는 것은 사용자의 책임입니다.

활성 성분

시약	이름	활성 성분	농도 (% w/w)
마스터 믹스	QIAcuityDx Universal MasterMix	QuantiNova® DNA Polymerase(5.6U/ μ l)	12%
		dNTP Mix(각각 10mM)	10%
염화마그네슘	MgCl ₂ , 200mM	없음	-
물	탈핵산분해효소수	없음	-

기호

사용 설명서나 포장 및 라벨에 다음과 같은 기호가 있을 수 있습니다.



이 제품은 체외 진단 의료 기기(IVDR)에 대한 유럽 규정(EU) 2017/746의 요구 사항을 충족합니다



체외 진단용 의료 기기



카탈로그 번호



재료 번호



로트 번호



국제 거래 단위 번호



의료 기기 고유식별코드



내용물



구성품



수



제조일

R_n

R은 제품 설명서의 개정 버전이며 n은 개정 버전 번호임

V_n

V는 제품 설명서의 버전이며 n은 버전 번호임



사용 기한



온도 제한



제조의뢰자



사용 설명서 참고



<N>

<N>회 반응에 충분한 시약 포함



직사광선으로부터 보호



경고



건강상 위험

안전성 정보

화학물질로 작업할 때는 항상 적합한 실험용 가운, 일회용 장갑 및 보안경을 착용하십시오. 자세한 정보는 적절한 안전보건자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참고하십시오. 해당 정보는 온라인(www.qiagen.com/safety)에서 편리하고 간결한 PDF 형식으로 제공되며, 해당 웹사이트에서 각 QIAGEN® 키트 및 키트 구성품의 SDS를 검색하여 확인하고 인쇄할 수 있습니다.

기기와 관련하여 발생한 중대한 사건을 제조업체와 사용자 및/또는 환자가 거주하는 국가의 규제 당국에 보고하는 데 있어 현지 규정을 따라야 할 수 있다는 점에 유의해 주십시오.

시료 및 샘플은 감염 가능성이 있습니다. 샘플 및 분석 폐기물은 현지 안전 절차에 따라 폐기하십시오.

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit에는 박테리아 발효 과정을 통해 생성된 QuantiNova DNA Polymerase가 포함되어 있습니다. 처리 과정의 마지막에 미생물에서 효소를 정제하여 감염 가능성이 있는 물질의 잔류 원천이 제거됩니다.

Universal MasterMix



내용물: 2-메틸이소티아졸-3(2H)-온, 1,2,4-트리아졸. 알레르기 피부 반응을 유발할 수 있습니다. 불임 또는 낙태를 일으킬 수 있습니다. 사용 전에 특별 지침을 확보하십시오. 모든 안전 예방 조치를 읽고 이해하기 전까지는 취급하지 마십시오. 보호용 장갑/보호복/보안경/얼굴 보호대를 착용하십시오. 노출 또는 우려 시: 의사의 진찰/치료를 받습니다. 잠근 상태로 보관하십시오. 내용물/용기를 승인된 폐기물 처리 시설에 폐기합니다.

비상 정보

CHEMTREC

미국 및 캐나다: 1-800-424-9300

미국 및 캐나다 외부: +1 703-527-3887

설명 및 원리

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit는 PCR 완충액의 반응 화학물질과 독자적 기준 염료가 포함된 즉시 사용 가능한 dPCR 마스터 믹스와 200mM 염화마그네슘(MgCl₂) 100% w/w 및 탈핵산분해효소수 100% w/w의 별도 튜브로 구성되어 있습니다.

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit와 함께 사용할 수 있는 재료의 전체 목록은 *QIAcuityDx System 사용 설명서*에서 확인할 수 있습니다.

이 프로토콜은 QIAcuityDx System을 사용한 싱글플렉스 또는 멀티플렉스 반응에서 TaqMan® 프로브와 함께 QIAcuityDx Universal MasterMix Kit를 사용하여 DNA 또는 cDNA 표적을 정량화하는 데 최적화되어 있습니다.

시작 전 참고 사항

- QIAcuityDx Universal MasterMix Kit의 구성품으로 형광 염료가 제공됩니다. 이를 통해 QIAcuityDx 호환 나노플레이트에 분획이 적절히 충전되는지 안정적으로 감지할 수 있습니다.
- TaqMan 프로브를 사용하는 최고 효율 dPCR 분석의 경우, 앰플리콘의 길이는 60~150bp가 이상적입니다. qPCR과 유사하게 더 긴 앰플리콘을 사용할 수도 있지만, 이 경우 분석 성능이 저하될 수 있습니다.
- 멀티플렉스 분석 수행 전 QIAcuityDx Four 기기의 검출 광학 장치를 사용하여 멀티플렉스 분석과 호환되는 보고자 염료와 소광제의 적합한 조합을 선택하십시오(표 1 참조).

중요: QIAcuityDx Four 기기로 생성된 이미지에 통합 크로스토크 보정이 적용됩니다. 이 보정은 인접한 광학 채널과 형광단 사이의 스펙트럼 중첩 효과를 최소화하기 위한 것입니다. 지원되지 않는 염료를 사용하면 최적의 크로스토크 보정이 이루어지지 않을 수 있습니다.

표 1. QIAcuityDx Four 기기용 광학 채널 및 지원 형광단

채널	여기(nm)	방출(nm)	지원되는 형광단
초록색	463~503	518~548	FAM™
노란색	514~535	550~564	HEX™
주황색	543~565	580~606	TAMRA™
빨간색	570~596	611~653	ROX™
진홍색	590~640	654~692	Cy5®

- 각 프로브에는 비형광 소광제를 사용해야 합니다. 특정 분석에서 신호 대 잡음비를 개선하기 위해 이중 소광 프로브를 사용할 수 있습니다.

- 이 프로토콜에 명시된 사이클링 조건 및 프라이머 농도를 사용하여 분석 개발을 시작할 것을 권장합니다. PCR 사이클링 조건은 QIAcuityDx Universal MasterMix Kit의 QuantiNova DNA Polymerase를 활성화하기 위해 95°C에서 2분의 초기 배양 단계로 시작해야 합니다.
- 사용하기 쉽도록 각 표적에 대한 표적 특이적 프라이머와 프로브가 포함된 10x 이상 농도의 프라이머-프로브 혼합물을 준비할 것을 권장합니다. 10x 프라이머-프로브 혼합물은 낮은 농도의 EDTA(0.1mM)가 포함된 TE 완충액 내에 들어 있는 1~8 μ M의 정방향 프라이머, 1~8 μ M의 역방향 프라이머, 0.5~4 μ M의 프로브로 구성됩니다.
- 평균 길이가 >30kb인 DNA 템플릿은 분획 전에 제한 효소 절단을 통해 단편화해야 할 수도 있습니다. 큰 DNA를 효소로 단편화하면 QIAcuityDx 호환 나노플레이트 전체에 템플릿이 고르게 분포되어 정확하고 정밀한 정량화가 보장됩니다. 매우 작게 단편화된 DNA(예: FFPE DNA 또는 순환 DNA)나 cDNA에는 제한 효소 절단이 필요하지 않습니다. 증폭된 염기서열 내에서는 절단되지 않는 효소를 사용해야 하므로 제한 효소의 사용이 권장됩니다.
- 샘플 투입량은 나노플레이트 분획 수에 따라 결정해야 하며 TaqMan 프로브 기반 검출을 사용할 경우 분획당 상한은 5카피입니다(표 2). 이상적인 카피/분획 범위는 0.5~3입니다. 실험 시작 전에 카피 수를 결정할 수 없는 경우 최초 적정 실험을 수행하여 최적의 샘플 투입량을 결정할 것을 권장합니다.

표 2. 플레이트 유형별 반응당 최대 카피 수

플레이트 유형	분획 수	반응당 카피 수 상한	분석된 용량(μ L)	총반응량 (μ L)	분석된 용량당 최대 카피 수	반응당 카피 수 상한 추정치
8.5k 나노플레이트	8500	5	2.9	13	42,500	170,000
26k 나노플레이트	26,000	5	24.0	42	130,000	217,000

절차

1. QIAcuityDx Universal MasterMix, 염화마그네슘, 템플릿 DNA 또는 cDNA, 프라이머-프로브 혼합물, 탈핵산분해효소수를 최대 30분 동안 실온에서 해동합니다.
2. 각 용액을 3~5초 동안 최고 속도로 볼텍싱하여 혼합합니다. 혼합 후 튜브를 짧게 원심분리하여 튜브 바닥에 있는 액체를 모아야 합니다.
3. 표 3에 따라 필요한 반응 수에 맞게 분석 마스터 믹스를 준비합니다. 템플릿/템플릿 없는 대조물질(NTC)은 제외합니다. 반응 셋업이나 후속 단계 동안 샘플을 얼음 위에 보관할 필요는 없습니다.

표 3. 권장 분석 마스터 믹스 셋업

구성품	용량/웰 (24/96-well, 8.5k 나노플레이트)	용량/웰 (24-well, 26k 나노플레이트)	최종 농도
QIAcuityDx Universal MasterMix	3.3µL	11µL	1x
MgCl ₂ , 200mM	0.41µL*	1.38µL*	6.28mM*
10x 프라이머-프로브 혼합물(분석당)†	1.32µL‡	4.4µL‡	0.1~0.8µM 정방향 프라이머 0.1~0.8µM 역방향 프라이머 0.05~0.4µM 프로브
제한 효소 (옵션)	최대 1µL	최대 1µL	0.025~0.25U/µL
탈핵산분해효소수	가변적	가변적	
템플릿 DNA 또는 cDNA(5단계에서 추가)	가변적‡	가변적‡	
총계	13.2µL	44µL	

*권장 시작 농도, 용량은 최적화에 따라 달라질 수 있습니다.

†용량은 사용된 프라이머-프로브 혼합물의 농도와 최종 표적 농도에 따라 달라질 수 있습니다.

‡적절한 템플릿 양은 다양한 매개변수에 따라 달라집니다. 시작 전 참고 사항을 참조하십시오.

4. 마스터 믹스를 최고 속도로 3~5초간 볼텍싱하여 혼합합니다. 짧게 원심분리합니다.
5. 템플릿/템플릿 없는 대조물질(No Template Control, NTC)을 제외한 모든 구성 성분이 포함된 적정량의 분석 마스터 믹스를 표준 PCR 플레이트 또는 LoBind 튜브의 웰에 분주합니다. 그런 다음 각 웰/튜브에 분석에 적합한 용량의 템플릿 DNA/NTC를 추가합니다(시작 전 참고 사항 참조).

참고: 2단계 RT-PCR의 경우, 추가된 cDNA의 양(희석되지 않은 역전사 반응에서 얻은 양)은 최종 PCR 용량의 15%를 초과해서는 안 됩니다.

6. PCR 플레이트에서 서브믹스(분석 마스터 믹스와 템플릿)를 혼합하려면 웰에서 위아래로 10번 피펫팅합니다. 튜브에서 혼합하려는 경우 3~5초 동안 최고 속도로 볼텍싱합니다. 플레이트/튜브를 짧게 원심분리하여 웰/튜브 바닥에 있는 액체를 모읍니다.

7. 각 웰/튜브의 내용물을 나노플레이트의 웰로 즉시 옮깁니다.

참고: 나노플레이트로 옮기는 동안 공기 방울이 생기지 않도록 첫 번째 스톱까지 피펫팅합니다. 혼합물을 산출 웰이 아닌 투입 웰에 피펫팅해야 합니다. 광학부 표면의 손상을 방지하고 결과의 이미징 및 분석을 방해하는 먼지를 줄이려면 반응 혼합물을 나노플레이트에 피펫팅하기 전에 나노플레이트를 나노플레이트 트레이에 넣을 것을 권장합니다. 나노플레이트 트레이는 사용하기 전에 보풀 없는 티슈로 미리 닦아야 합니다.

8. 플레이트 키트 내에 제공된 나노플레이트 실의 사용하여 나노플레이트를 올바르게 밀봉합니다.

참고: 정확한 밀봉 절차는 *QIAcuityDx System 사용 설명서를 참조하십시오.*

9. DNA 절단을 위한 제한 효소가 반응에 포함된 경우, 플레이트를 실온에서 10분 동안 방치합니다.

10. 표 4에 따라 QIAcuityDx Four 기기의 사이클러를 프로그래밍합니다.

표 4. 권장 qPCR 사이클링 조건

단계	시간	온도(°C)	사이클 수
PCR 최초 열 활성화	2분	95	1
변성	15초	95	40*
결합된 어닐링/연장*	30초*	60	

*온도/시간/사이클 수는 분석 유형에 따라 다를 수 있음

11. 나노플레이트를 QIAcuityDx Four 기기에 넣고 *QIAcuityDx System 사용 설명서*에 따라 dPCR 프로그램을 시작합니다.

폐기

사용한 제품과 사용하지 않은 제품은 현지 및 국가 규정에 따라 폐기하십시오.
안전보건자료(Safety Data Sheet, SDS)의 권장 사항을 따르십시오.

정도 관리

QIAGEN의 ISO 인증 품질 관리 시스템에 따라, QIAcuityDx Universal MasterMix Kit의 각 로트는 제품 품질의 일관성을 보장하기 위해 사전 결정된 사양에 따라 검사를 받습니다.

제한 사항

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit의 성능은 해당하는 후속 QIAGEN 분석법을 통해 입증되었습니다. 해당 워크플로 내에서 이 제품을 취급하는 방법에 관한 자세한 지침은 해당 QIAGEN 후속 응용 분석의 사용 설명서를 참조하십시오.

사용자의 실험실 분석법이 QIAGEN 성능 시험에 포함되지 않는 경우 성능 검증은 사용자의 책임입니다. 진단 결과에 부정적인 영향을 미칠 수 있는 위험을 최소화하려면 후속 응용 분석에 적절한 대조물질을 사용해야 합니다. 추가적인 검증을 위해서는 *ICH Q2(R1) 분석 절차 검증: 텍스트 및 방법론*[*ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology*]에 있는 의약품국제조화회의(International Conference on Harmonization of Technical Requirements, ICH)의 지침이 권장됩니다.

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit는 멸균 제조 절차에 따라 생산되지 않으므로 측정에 영향을 미칠 수 있는 다른 성분이 포함되어 있을 수 있습니다. 진단 결과에 부정적인 영향을 미칠 위험이 커지는 경우를 대비해 후속 응용 분석에는 적절한 대조물질이 포함되어야 합니다.

문제 해결

이 섹션에서는 QIAcuityDx Universal MasterMix Kit 사용 시 문제가 발생할 경우 어떻게 해야 하는지에 관한 정보를 제공합니다. 추가 지원이 필요한 경우, 아래 연락처 정보를 사용하여 QIAGEN 기술 서비스에 문의하시면 국가별 연락처 세부 정보를 안내해 드립니다.

웹사이트: support.qiagen.com

문제

의견 및 제안

NTC 증폭

분석 설계	프라이머/프로브를 재설계합니다. 프라이머 프로브 농도와 $MgCl_2$ 농도를 변경하여 분석 조건을 최적화합니다.
시약의 오염	시약을 폐기하고 새로운 시약을 사용해 분석을 반복합니다.
분석 셋업의 오염	적절한 세척 도구로 작업 구역의 오염을 제거하여 오염을 예방합니다.

증폭되지 않음

최적화되지 않은 PCR 조건	초기 변성 시간을 늘립니다. 어닐링/연장 시간을 늘립니다.
시작 템플릿 부족	분석 마스터 믹스에 첨가하는 시작 템플릿의 양/농도를 늘립니다.

포화 플래그

프로브의 과포화	이미징 매개변수에서 노출 시간을 줄입니다. 이미징 매개변수에서 게인을 줄입니다.
----------	---

양성 클러스터와 음성 클러스터 간의 불충분한 분리

분석 설계	프라이머 프로브 농도와 $MgCl_2$ 농도를 변경하여 분석 조건을 최적화합니다. 신호 대 잡음비를 높이기 위해 이중 소광 TaqMan 프로브로 바꿉니다.
최적화되지 않은 PCR 조건	초기 변성 시간을 늘립니다. 어닐링/연장 시간을 늘립니다.

실행 간 절대 정량화 값에서 편차 관찰됨

QIAcuityDx Universal MasterMix 첨가 부족	서브믹스에서 QIAcuityDx Universal MasterMix의 최종 농도가 $1 \times (4x$ 스톡 솔루션을 희석)가 되도록 합니다.
--------------------------------------	--

문제

의견 및 제안

해동/셋업 시간의 변화

해동/셋업 시간이 길어지면 절대 정량화 값에 부정적인 영향을 미칠 수 있습니다. 최적의 성능을 위해 시약은 최대 30분 동안 해동해야 하며, 서브믹스(분석 마스터 믹스 + 템플릿)가 준비되면 즉시 나노플레이트에 로드해야 합니다. 해동/셋업 시간을 늘려야 하는 경우, 절대 정량화의 변화가 최종 결과에 영향을 미치지 않도록 분석별로 허용 가능한 시간 범위를 설정해야 합니다.

최적화되지 않은 PCR 조건

변성 온도를 최적화합니다.
어닐링/연장 온도를 최적화합니다.

나노 플레이트 웰 간 일관성 없는 결과

최적화되지 않은 PCR 조건

활성화 시간을 2분에서 15분까지 늘려 최적화합니다.

주문 정보

제품	내용물	카탈로그 번호
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (1mL)	최대 4개의 QIAcuityDx Nanoplate 준비용: 1 x QIAcuityDx Universal MasterMix, 1 x MgCl ₂ , 200mM, 2 x 탈핵산분해효소수	260101
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (5mL)	최대 20개의 QIAcuityDx Nanoplate 준비용: 5 x QIAcuityDx Universal MasterMix, 2 x MgCl ₂ , 200mM, 5 x 탈핵산분해효소수	260102

제품 취급 시 적절한 관리 및 주의를 기울여야 합니다. QIAGEN® 제품을 사용하는 모든 사용자는 해당 지역의 모든 규정을 준수하고 모든 관련 표준 및 지침을 따를 것이 권장됩니다.

문서 개정 이력

날짜

변경 사항

R1, 2024년 7월

최초 발행

QIAcuityDx® Universal MasterMix Kit에 대한 제한적인 라이선스 계약

이 제품의 구매자 또는 사용자는 이 제품을 사용하면 다음 약관에 동의하는 것으로 간주됩니다.

- 이 제품은 제품과 함께 제공된 프로토콜과 본 사용 설명서에 따라 사용해야 하며, 패널에 포함된 구성품과만 함께 사용할 수 있습니다. QIAGEN은 제품과 함께 제공된 프로토콜 및 본 사용 설명서, www.qiagen.com에 제공된 추가 프로토콜에서 설명한 경우를 제외하고 지식 재산권에 따라 본 패널에 동봉된 구성품을 본 패널에 포함되지 않은 구성품과 통합하거나 사용하도록 라이선스를 부여하지 않습니다. 이러한 추가 프로토콜 중 일부는 QIAGEN 사용자를 위해 QIAGEN 사용자가 제공한 것입니다. QIAGEN에서 이 프로토콜을 철저히 검사하거나 최적화하지 않았습니다. QIAGEN은 이를 보증하거나 해당 내용이 제삼자의 권한을 침해하지 않는다는 것을 보장하지 않습니다.
- 명시적으로 설명한 라이선스를 제외하고, QIAGEN은 이 패널 및/또는 이 패널의 사용이 제삼자의 권리를 침해하지 않음을 보증하지 않습니다.
- 이 패널 및 구성품은 1회 사용에 대해 라이선스가 부여되며 재사용, 리퍼비시 또는 재판매할 수 없습니다.
- QIAGEN은 명시적으로 설명한 경우 이외에 명시 또는 암시한 다른 라이선스는 명확히 부인합니다.
- 패널의 구매자 및 사용자는 위에서 금지한 행위로 이어지거나 그러한 행위를 조장할 수 있는 조치를 취하거나 다른 사람이 그렇게 하도록 허용하지 않는다는 데 동의합니다. QIAGEN은 모든 법정에서 이 제한적 라이선스 계약의 금지를 시행할 수 있으며, 패널 및/또는 해당 구성품과 관련된 이 제한적 라이선스 계약 또는 지식 재산권을 행사하는 데 필요한 모든 조치에서 변호사 비용을 포함하여 모든 조사 및 법정 비용을 회수할 수 있습니다.

업데이트된 라이선스 약관은 www.qiagen.com에서 확인하십시오.

상표: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAcuityDx®, QuantiNova®(QIAGEN Group); Cy®(GE Healthcare); Taqman®(Roche Molecular Systems, Inc.); FAM™, HEX™, ROX™, TAMRA™, (Thermo Fisher Scientific 또는 그 회사). 이 문서에 사용된 등록된 이름, 상표 등은 별도로 표시되지 않은 경우에도 법적 보호를 받는 것으로 간주됩니다.

2024/07 HB-3592-001 © 2024 QIAGEN, 모든 권리 보유.

의도적으로 비워 둔 페이지입니다.

의도적으로 비워 둔 페이지입니다.

의도적으로 비워 둔 페이지입니다.

