

PyroMark[®] Q24 MDx User Manual

IVD

CE

MAT 1063078PL



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANY

R4



Trademarks: QIAGEN[®], DNeasy[®], EpiTect[®], PyroMark[®], Pyrosequencing[®], Pyrogram[®], QIAamp[®], QIAprep[®], Q-Solution[®], RNeasy[®] (QIAGEN Group); Adobe[®], Reader[®] (Adobe Systems Incorporated); Intel[®], Pentium[®] (Intel Corporation); Microsoft[®], Windows[®] (Microsoft Corporation); Millex[®], Millipore[®], Milli-Q[®] (Merck KGaA); Sepharose[®] (GE Healthcare). Registered names, trademarks, etc. used in this document, even when not specifically marked as such, are not to be considered unprotected by law.

HB-0332-004 © 2011–2016 QIAGEN, all rights reserved.

Spis treści

1	Informacje dot. Bezpieczeństwa	1-1
1.1	Właściwe użytkowanie	1-2
1.2	Bezpieczeństwo elektryczne	1-3
1.3	Bezpieczeństwo biologiczne	1-3
1.4	Substancje chemiczne	1-5
1.5	Zagrożenia mechaniczne	1-6
1.6	Ryzyko poparzenia	1-6
1.7	Materiały eksploatacyjne	1-7
1.8	Symbole na produktach PyroMark Q24 MDx i PyroMark Q24	1-7
2	Wstęp	2-1
2.1	O instrukcji	2-1
2.2	Informacje ogólne	2-2
2.2.1	Pomoc techniczna	2-2
2.2.2	Deklaracja polityki	2-2
2.2.3	Zarządzanie wersjami	2-2
2.3	Przeznaczenie aparatu PyroMark Q24 MDx	2-3
2.3.1	Wymagania względem użytkowników PyroMark Q24 MDx	2-3
3	Ogólny opis	3-1
3.1	Definicje PyroMark Q24 MDx	3-1
3.2	Zasada pirosekwencjonowania	3-1
3.3	Zasada działania PyroMark Q24 MDx	3-3
3.4	Aparat PyroMark Q24 MDx	3-4
3.4.1	Komora reakcyjna	3-5
3.4.2	Jednostka dozująca	3-5
3.5	Przygotowywanie próbek za pomocą próżniowej stacji roboczej PyroMark Q24 MDx	3-6
3.6	Oprogramowanie do analizy	3-6
4	Procedury instalacyjne	4-5
4.1	Dostawa i instalacja systemu	4-5
4.2	Wymagania	4-5
4.3	Instalacja oprogramowania do analizy	4-7
4.3.1	Instalacja lub aktualizacja oprogramowania PyroMark Q24 MDx Software	4-7
4.3.2	Oinstalowywanie oprogramowania PyroMark Q24 MDx Software	4-8


5	Procedury operacyjne	5-1
5.1	Zarządzanie aparatem	5-1
5.1.1	Ustawianie daty i godziny	5-1
5.1.2	Kopiowanie niezapisanych reakcji	5-1
5.1.3	Kopiowanie ostatnich zapisanych reakcji	5-2
5.1.4	Kopiowanie plików dziennika	5-3
5.1.5	Wyodrębnianie plików przerwanych reakcji	5-3
5.1.6	Przeglądanie informacji, wersji i informacji kontaktowych	5-3
5.1.7	Aktualizacja oprogramowania	5-4
5.1.8	Uruchamianie aplikacji zewnętrznej	5-4
5.2	Nastawianie reakcji	5-4
5.2.1	Uruchamianie oprogramowania PyroMark Q24 MDx Software	5-5
5.2.2	Konfigurowanie analizy	5-5
5.2.3	Ustawianie przebiegu analizy	5-6
5.2.4	Zarządzanie metodami urządzenia	5-8
5.3	Przygotowanie próbki	5-9
5.3.1	Test działania funkcji próżniowej stacji roboczej PyroMark Q24 MDx	5-10
5.3.2	Amplifikacja DNA	5-11
5.3.3	Unieruchomienie produktu PCR przy pomocy kulek	5-11
5.3.4	Rozdział nici DNA i przenoszenie próbek na płytkę PyroMark Q24	5-12
5.3.5	Annealing startera sekwencjonującego do próbek	5-17
5.4	Przygotowanie odczynników PyroMark Gold Q24	5-18
5.5	Przeprowadzanie reakcji na aparacie PyroMark Q24 MDx	5-19
5.5.1	Oprogramowanie urządzenia	5-19
5.5.2	Uruchamianie urządzenia	5-20
5.5.3	Start reakcji	5-20
5.5.4	Monitorowanie przebiegu reakcji	5-21
5.5.5	Po zakończeniu reakcji	5-23
5.5.6	Analizowanie reakcji	5-25
5.5.7	Przeglądanie wyników analizy	5-27
5.5.8	Raporty analizy	5-29
5.6	Kończenie pracy i zamykanie	5-30
5.6.1	Zamykanie urządzenia	5-30
5.6.2	Opróżnianie pojemnika na odpady i korytek	5-31
5.6.3	Sprawdzanie urządzenia	5-32
5.7	Kopia zapasowa plików PyroMark Q24	5-32


6	Konserwacja	6-1
6.1	Sprawdzanie wydajności PyroMark Q24 MDx	6-1
6.2	Konserwacja urządzenia PyroMark Q24 MDx	6-2
6.2.1	Czyszczenie urządzenia	6-2
6.2.2	Czyszczenie bloku grzejnego i światłowodów	6-3
6.3	Konserwacja próżniowej stacji roboczej urządzenia PyroMark Q24 MDx	6-5
6.3.1	Czyszczenie próżniowego stanowiska roboczego urządzenia PyroMark Q24 MDx	6-5
6.3.2	Testowanie i wymienianie sond filtrujących	6-6
6.3.3	Symiana gumowej uszczelki	6-7
6.3.4	Wymiana przewodu	6-8
6.3.5	Wymiana filtra odpadów	6-9
7	Rozwiązywanie problemów	7-1
7.1	Błędy związane z analizą	7-2
7.2	Analiza błędów oprogramowania	7-5
7.3	Błędy związane z urządzeniem	7-6
7.4	Błędy kolektora próżniowego	7-8
7.5	Weryfikacja poprawności instalacji i obsługi	7-9
8	Słowniczek	8-1
	Załącznik A	A-1
	Dane techniczne	A-1
	Warunki środowiskowe	A-1
	Odpady Elektryczne i Elektroniczne (WEEE)	A-5
	Deklaracja FCC	A-6
	Deklaracja zgodności z CE	A-7
	Załącznik B	B-1
	Projekt testu i walidacja	B-1
	Załącznik C	C-1
	Klauzula odpowiedzialności	C-1
	Indeks	Indeks-1

1 Informacje dot. Bezpieczeństwa

Przed użyciem aparatu PyroMark Q24 MDx, należy dokładnie przeczytać niniejszą instrukcję, zwracając szczególną uwagę na informacje dotyczące bezpieczeństwa. Instrukcja ta i zawarte w niej informacje dot. bezpieczeństwa muszą być przestrzegane w celu zapewnienia bezpiecznej pracy urządzenia oraz utrzymania go w stanie zapewniającym bezpieczeństwo.


W instrukcji pojawiają się następujące typy informacji na temat bezpieczeństwa:

<p>UWAGA</p> 	<p>Termin UWAGA służy do informowania o sytuacjach, które mogą spowodować zranienie użytkownika lub innych osób. Szczegóły dotyczące tych okoliczności podane są w ramce (jak ta).</p>
---	--


<p>OSTROŻNIE</p> 	<p>Termin OSTROŻNIE służy do informowania o sytuacjach, które mogą spowodować uszkodzenie urządzenia lub innego sprzętu. Szczegóły dotyczące tych okoliczności podane są w ramce (jak ta).</p>
---	--


Zalecenia podane w tej instrukcji stanowią uzupełnienie, nie zastępują ogólnych wymogów bezpieczeństwa panujących w kraju użytkownika.

1.1 Właściwe użytkowanie

UWAGA 	Niebezpieczeństwo obrażeń i szkód materialnych Niewłaściwe użycie PyroMark Q24 MDx może spowodować obrażenia ciała lub uszkodzenie urządzenia. PyroMark Q24 MDx może być obsługiwany wyłącznie przez wykwalifikowany personel, który został odpowiednio przeszkolony. Serwisowanie PyroMark Q24 MDx może być wykonywane wyłącznie przez Specjalistów serwisowych autoryzowanych przez QIAGEN.
---	---


Konserwację należy przeprowadzać zgodnie z opisem w rozdziale 6. QIAGEN® nalicza opłaty za naprawy, które wynikają z nieprawidłowej konserwacji.

UWAGA 	Niebezpieczeństwo obrażeń i szkód materialnych PyroMark Q24 MDx jest zbyt ciężki, by być noszonym przez jedną osobę. Aby uniknąć obrażeń ciała lub uszkodzenia urządzenia, nie należy podnosić urządzenia samodzielnie.
---	---

UWAGA 	Niebezpieczeństwo obrażeń i szkód materialnych Bezwzględnie nie wolno zmieniać położenia aparatu PyroMark Q24 MDx podczas jego pracy.
---	---

1.2 Bezpieczeństwo elektryczne

Przed dokonaniem jakichkolwiek prac serwisowych należy odłączyć kabel zasilający z gniazda elektrycznego.

<p>UWAGA</p> 	<p>Zagrożenie porażeniem elektrycznym Jakikolwiek przerwanie przewodu ochronnego (uziemiającego) wewnątrz lub na zewnątrz urządzenia lub odłączenie zacisku przewodu ochronnego zwiększa zagrożenie porażenia prądem. Umyślne przerwanie przewodu jest zabronione.</p> <p>Śmiertelne napięcia wewnątrz urządzenia Gdy urządzenie jest podłączone do zasilania, zaciski mogą znajdować się pod napięciem, a otwarcie pokrywy lub innych części może odsłonić elementy będące pod napięciem.</p>
---	---

Aby zapewnić zadowalającą i bezpieczną pracę PyroMark Q24 MDx, należy postępować zgodnie ze wskazówkami poniżej:

- Przewód zasilający musi być podłączony do gniazda zasilania, które ma uziemienie (ziemia / grunt).
- Zachować dostęp do wtyczek sieciowych na wypadek konieczności szybkiego odłączenia sprzętu od sieci.
- Używać tylko zasilaczy i przewodów dostarczonych wraz z urządzeniem.

1.3 Bezpieczeństwo biologiczne

Pracując z materiałem biologicznym należy stosować się do bezpiecznych procedur laboratoryjnych, np. takich jak w publikacji: Bezpieczeństwo biologiczne w Mikrobiologicznych i Biomedycznych Laboratoriach, HHS (www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/biosfty.htm).

UWAGA



Materiał biologiczny

Z materiałem biologicznym należy obchodzić się z największą ostrożnością i zgodnie z wymaganymi przepisami bezpieczeństwa. Zawsze noś okulary ochronne, 2 pary rękawic i fartuch laboratoryjny. Osoba odpowiedzialna (np. kierownik laboratorium) musi podjąć niezbędne środki ostrożności w celu zapewnienia, że otoczenie w miejscu pracy jest bezpieczne i że osoby obsługujące aparat są odpowiednio przeszkolone. Nie mogą oni być narażeni na działanie niebezpiecznych poziomów czynników zakaźnych jak określono w obowiązujących Kartach Charakterystyki Substancji Niebezpiecznych (MSDS) lub OSHA*, ACGIH† czy COSHH‡. Więcej informacji znajduje się na stronie www.qiagen.com/support/msds.aspx


Wietrzenie i unieszkodliwianie odpadów musi być przeprowadzane zgodnie ze wszystkimi krajowymi i lokalnymi przepisami dot. zdrowia i bezpieczeństwa pracy.

* OSHA: Administracja Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (Stany Zjednoczone).

† ACGIH: Amerykańska Konferencja Rządowych Higienistów Przemysłowych (Stany Zjednoczone)

‡ COSHH: Kontrola substancji zagrażających zdrowiu (Wielka Brytania).

1.4 Substancje chemiczne

<p>UWAGA</p> 	<p>Niebezpieczne substancje chemiczne</p> <p>Roztwór do denaturacji stosowany w stacji roboczej zawiera wodorotlenek sodu, który działa drażniąco na oczy i skórę. Należy zawsze nosić okulary ochronne, rękawice i fartuch laboratoryjny. Osoba odpowiedzialna (np. kierownik laboratorium) musi podjąć niezbędne środki ostrożności w celu zapewnienia, że otoczenie w miejscu pracy jest bezpieczne i że operatorzy urządzenia są odpowiednio przeszkoleni. Nie mogą oni być narażeni na działanie niebezpiecznych poziomów substancji toksycznych, jak określono w obowiązujących Kartach Charakterystyki Substancji Niebezpiecznych (MSDS) lub OSHA*, ACGIH† czy COSHH‡.</p> <p>Więcej informacji znajduje się na stronie www.qiagen.com/support/msds.aspx</p> <p>Wietrzenie i unieszkodliwianie odpadów musi być przeprowadzane zgodnie ze wszystkimi krajowymi, stanowymi i lokalnymi przepisami dot. zdrowia i bezpieczeństwa pracy.</p>
---	---


* OSHA: Administracja Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (Stany Zjednoczone).


† ACGIH: Amerykańska Konferencja Rządowych Higienistów Przemysłowych (Stany Zjednoczone)


‡ COSHH: Kontrola substancji zagrażających zdrowiu (Wielka Brytania).

1.5 Zagrożenia mechaniczne


Podczas pracy urządzenia pokrywa aparatu PyroMark Q24 MDx musi być zamknięta. Dźwiękowy sygnał ostrzegawczy ostrzega o otwarciu pokrywy, gdy nie jest to bezpieczne.


UWAGA	Ruchome części
	<p>Aby uniknąć kontaktu z ruchomymi częściami podczas pracy urządzenia PyroMark Q24 MDx, aparat należy obsługiwać przy zamkniętej pokrywie.</p> <p>Nie usuwać paneli osłonowych, ponieważ w środku nie ma żadnych części, które użytkownik może naprawić samodzielnie. W razie problemów z urządzeniem PyroMark Q24 MDx należy natychmiast skontaktować się z działem technicznym QIAGEN.</p>

UWAGA	Ostre igły
	<p>Nie dotykać ostrych igieł na spodzie kartridża z odczytnikiem. Należy zachować ostrożność w czasie kontaktu z igłami. Małe cząsteczki i włókna mogą zablokować igły.</p>


OSTROŻNIE	Konserwacja źródeł światła
	<p>Do czyszczenia przestrzeni między blokiem grzejnym a źródłem światła wewnątrz urządzenia należy używać niestrzępiących się ściereczek. Nie używać papierowych chusteczek.</p>

1.6 Ryzyko poparzenia

UWAGA	Hot surface
	<p>Statyw na płytki i blok grzejny (do annealingu) mogą osiągać temperatury do 80°C (176°F). Nie dotykać, gdy są gorące.</p>

<p>OSTROŻNIE</p> 	<p>Ryzyko przegrzania</p> <p>Aby zapewnić właściwą wentylację, należy utrzymywać minimalną odległość 10 cm (3,94 cali) po bokach i z tyłu aparatu PyroMark Q24 MDx.</p> <p>Szczeliny i otwory, które zapewniające wentylację aparatu PyroMark Q24 MDx nie mogą być zasłonięte.</p>
---	---









1.7 Materiały eksploatacyjne










<p>OSTROŻNIE</p> 	<p>Nieobsługiwane materiały eksploatacyjne</p> <p>Nie podłączać ani nie używać żadnych materiałów eksploatacyjnych, akcesoriów ani wyposażenia zewnętrznego innych niż zalecane.</p>
---	---

1.8 Symbole na produktach PyroMark Q24 MDx i PyroMark Q24


Symbol	Miejsce	Język	Opis
	Tabliczka znamionowa z tyłu urządzenia	EN	Znak CE
	Tabliczka znamionowa z tyłu urządzenia	EN	Znak CSA dla Kanady i USA
	Tabliczka znamionowa z tyłu urządzenia	EN	znaczenie FCC Federalnej Komisji Łączności Stanów Zjednoczonych
	Tabliczka znamionowa z tyłu urządzenia	EN	Oznaczenie RCM dla Australii (identyfikator dostawcy N17965)

Informacje dot. Bezpieczeństwa

Symbol	Miejsce	Język	Opis
	Tabliczka znamionowa z tyłu urządzenia	EN	Znak RoHS dla Chin (ograniczenie stosowania niektórych niebezpiecznych substancji w sprzęcie elektrycznym i elektronicznym)
	Tabliczka znamionowa z tyłu urządzenia	EN	Zużyty sprzęt elektryczny i elektroniczny (WEEE)
	Tabliczka znamionowa z tyłu urządzenia	EN	Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro
	Odczynniki, roztwory, kartridż, płytki	EN	Identyfikacja partii produkcyjnej/zestawu
	Odczynniki, roztwory	EN	Zawiera odczynniki do <N> testów
	Odczynniki, roztwory, kartridż, płytki	EN	Numer katalogowy
	Odczynniki, roztwory, kartridż, płytki	EN	Numer materiału
	Odczynniki, roztwory, kartridż, płytki	EN	Składnik

Symbol	Miejsce	Język	Opis
	Odczynniki, roztwory, kartridż, płytki	EN	Zawiera
	Odczynniki, roztwory, kartridż, płytki	EN	Numer
	Odczynniki, roztwory, kartridż, płytki	EN	Zużyć przed
	Odczynniki, roztwory, kartridż, płytki	EN	Ograniczenia temperaturowe
	Aparat, VPW, odczynniki, kartridż	EN	Przeczytać instrukcję obsługi
	Tabliczka znamionowa z tyłu aparatu i wszystkich innych produktów	EN	Producent
	Kartridż	EN	Chronić przed światłem (słonecznym)
	Kartridż	EN	Numer metody
	Kartridż	EN	Parametry urządzenia

Informacje dot. Bezpieczeństwa

Symbol	Miejsce	Język	Opis
	Wewnątrz urządzenia	EN	Ostrzeżenie, sprawdź instrukcję użytkownika

2 Wstęp

Dziękujemy za wybranie PyroMark Q24 MDx. Jesteśmy pewni, że stanie się on integralną częścią Państwa laboratorium.

Przed użyciem PyroMark Q24 MDx należy koniecznie dokładnie zapoznać się z niniejszą instrukcją i zwrócić szczególną uwagę na informacje dotyczące bezpieczeństwa (patrz: Rozdział 1). Należy przestrzegać instrukcji i wskazówek bezpieczeństwa w niej zawartych, aby zapewnić bezpieczną pracę systemu i utrzymać system w dobrym stanie.

2.1 O instrukcji

Niniejsza instrukcja obsługi zawiera informacje o PyroMark Q24 MDx z podziałem na następujące sekcje:

1. Informacje dotyczące bezpieczeństwa
2. Wstęp
3. Opis ogólny
4. Procedury instalacyjne
5. Procedury operacyjne
6. Procedury konserwacji
7. Rozwiązywanie problemów
8. Słownik

Załączniki

Załączniki zawierają:

- Dane techniczne
- Warunki środowiskowe
- Wymagania recyklingu WEEE
- Projektowanie analiz i walidacja
- Warunki gwarancji

2.2 Informacje ogólne

2.2.1 Pomoc techniczna

W QIAGEN jesteśmy dumni z jakości i dostępności naszego wsparcia technicznego. Nasze działy obsługi technicznej zatrudniają doświadczonych naukowców z szerokim praktycznym i teoretycznym doświadczeniem w zakresie technologii izolacji i analiz oraz stosowania produktów QIAGEN. Jeśli macie Państwo pytania lub jakiegokolwiek problemy związane z produktami PyroMark Q24 MDx lub innymi produktami QIAGEN, prosimy o kontakt.

Klienci QIAGEN są głównym źródłem informacji na temat zaawansowanych lub specjalistycznych zastosowań naszych produktów. Takie informacje są pomocne dla innych naukowców, jak również dla badaczy z QIAGEN. Dlatego zachęcamy do kontaktu z nami, jeśli macie Państwo jakieś sugestie dotyczące wydajności produktu lub nowych aplikacji i technik.

Aby uzyskać pomoc techniczną i więcej informacji, zachęcamy do odwiedzenia naszego Centrum Wsparcia Technicznego na stronie www.qiagen.com/Support lub kontaktu z jednym z działów obsługi technicznej QIAGEN lub lokalnych dystrybutorów (patrz: tylna okładka lub strona www.qiagen.com).

2.2.2 Deklaracja polityki

Polityką QIAGEN jest ulepszanie produktów w miarę pojawiania się nowych technik i komponentów. QIAGEN zastrzega sobie prawo do zmiany specyfikacji w dowolnym momencie.

Staramy się tworzyć przydatną i adekwatną dokumentację, dlatego doceniamy Państwa komentarze i opinie. Zachęcamy do kontaktu w tej sprawie z działem technicznym QIAGEN.

2.2.3 Zarządzanie wersjami

Niniejszy dokument jest instrukcją użytkownika *PyroMark Q24 MDx*, wersja 1.0, korekta R4.

2.3 Przeznaczenie aparatu PyroMark Q24 MDx

PyroMark Q24 MDx to system służący do wykrywania zmian w określonych pozycjach zmiennych w DNA, które mogą mieć znaczenie kliniczne.

PyroMark Q24 MDx jest przeznaczony do diagnostyki in vitro w Europie.

Aparat PyroMark Q24 MDx przeznaczony jest do stosowania wyłącznie wraz z zestawami QIAGEN wskazanymi do stosowania z aparatem PyroMark Q24 MDx w aplikacjach opisanych w instrukcjach zestawu.

System PyroMark Q24 MDx jest przeznaczony do użytku przez profesjonalnych użytkowników, takich jak technicy i lekarze przeszkoleni w zakresie technik biologii molekularnej i działania systemu PyroMark Q24 MDx.

2.3.1 Wymagania względem użytkowników PyroMark Q24 MDx

Poniższa tabela przedstawia ogólny poziom kompetencji i szkoleń niezbędnych do transportu, instalacji, użytkowania, konserwacji i serwisowania PyroMark Q24 MDx.

Zadanie	Personel	Szkolenie i doświadczenie
Dostawa	Brak szczególnych wymagań	Brak szczególnych wymagań
Instalacja	Tylko serwisanci terenowi QIAGEN	
Rutynowe użycie (przeprowadzanie protokołów)	Technicy laboratoryjni lub równoważni	Odpowiednio przeszkolony i doświadczony personel znający ogólnie zastosowanie komputerów i automatyki
Projektowanie analiz i walidacja	Naukowiec lub równoważny	Odpowiednio przeszkolony i doświadczony personel znający techniki biologii molekularnej
Konserwacja	Technicy laboratoryjni lub równoważni	Odpowiednio przeszkolony i doświadczony personel znający ogólnie zastosowanie komputerów i automatyki
Serwis i coroczna konserwacja	Tylko serwisanci terenowi QIAGEN	

3 Ogólny opis

W aparacie PyroMark Q24 MDx wykorzystano sprawdzoną technologię pirosekwencjonowania w czasie rzeczywistym do wykrywania i oceny ilościowej opartej na sekwencji DNA w analizach genetycznych i epigenetycznych w badaniach metylacyjnych. System może analizować jednocześnie do 24 próbek. Do przygotowania próbek służy łatwy w użyciu protokół.

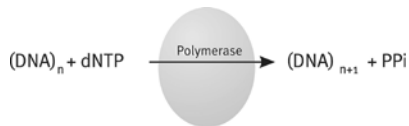
3.1 Definicje PyroMark Q24 MDx

- PyroMark Q24 MDx: urządzenie, oprogramowanie i instalacja
- Aparat PyroMark Q24 MDx: tylko aparat
- Oprogramowanie PyroMark Q24 MDx: tylko oprogramowanie
- Robocza stacja próżniowa PyroMark Q24 MDx: tylko robocza stacja próżniowa
- System PyroMark Q24 MDx: wszystkie powyższe plus zestawy PyroMark

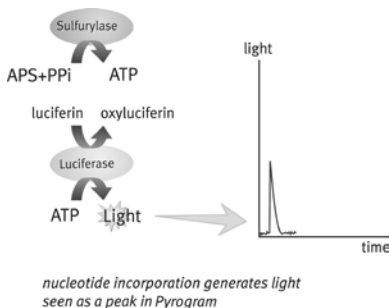
3.2 Zasada pirosekwencjonowania

Pirosekwencjonowanie polega na sekwencjonowaniu przez syntezę w celu dokładnej i ilościowej analizy sekwencji DNA.

1. Starter do sekwencjonowania hybridyzuje z jednoniciową matrycą DNA amplifikowaną za pomocą PCR.
2. Matryca jest inkubowana z enzymami i substratami.
3. Pierwszy z czterech nukleotydów dodaje się do reakcji. Jeśli nukleotyd jest komplementarny do zasady w nici matrycy, zostanie włączony do nici DNA przez polimerazę DNA.
4. Każde zdarzenie włączenia towarzyszy uwalnianiu pirofosforanu (PPi) w ilości równomolowej do ilości wbudowanego nukleotydu.



- Sulfurylaza ATP ilościowo konwertuje PPi do ATP w obecności 5'-fosfosiarczanu adenozyne.
- Prowadzi to do konwersji lucyferyny do oksylucyferyny przez lucyferazę i wytwarza się światło widzialne w ilościach proporcjonalnych do ilości ATP. Światło to jest wykrywane za pomocą matrycy CCD (charged coupled devices CCDs) i widziane jako punkt szczytowy na Pyrogramie®. Każdy sygnał świetlny jest proporcjonalny do liczby wbudowanych nukleotydów

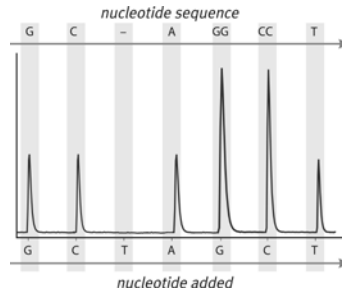


- Apyraza, enzym degradujący nukleotydy, w sposób ciągły degraduje niezwiązane nukleotydy i ATP. Po zakończeniu degradacji dodaje się kolejny nukleotyd.



- Nukleotydy dodaje się pojedynczo.

Uwaga: Alfa-tio trójfosforan deoksyadenozyny (dATP α S) stosuje się zamiast naturalnego trifosforanu deoksyadenozyny (dATP), ponieważ jest on skutecznie stosowany przez polimerazę DNA, ale nie jest rozpoznawany przez lucyferazę.
- W miarę trwania procesu budowana jest sekwencja komplementarna, a sekwencję nukleotydową określa się z wielkości pików w Pyrogramie.



3.3

Zasada działania PyroMark Q24 MDx

PyroMark Q24 MDx wykonuje sekwencjonowanie DNA przy użyciu technologii pirosekwencjonowania.

1. Płytkę PyroMark Q24 zawierającą próbki umieszcza się na bloku grzejmym wewnątrz urządzenia, a kartridż PyroMark Q24 wypełnia się odczynnikami PyroMark Gold Q24 i umieszcza w jednostce dozującej.
2. Pamięć USB zawierająca plik cyklu utworzony przy użyciu oprogramowania PyroMark Q24 MDx Software jest wkładana do portu USB z przodu aparatu. Następnie cykl jest uruchamiany przez użytkownika.
3. Ciśnienie w jednostce dozującej, prędkość miksera i temperatury bloku grzejmego, pokrywy komory reakcyjnej i cieczy chłodzącej są ustawione na domyślne poziomy.
4. Mieszaniny enzymów i substratów są dozowane do pierwszej studzienki na płytce (prostokątna studzienka w celu zapewnienia, że kapilary dozujące zostaną przepłukane i wypełnione roztworem).
5. Mieszaninę enzymów, a następnie mieszaninę substratów dozuje się do wszystkich wykorzystywanych dołków.
6. Ciśnienie w jednostce dozującej jest zwiększane.
7. Nukleotydy są dozowane do pierwszej studzienki do przemywania przed wprowadzeniem do dołków. Nukleotydy dodaje się w określonej kolejności. Pomędzy dodawaniem każdego nukleotydu upływa 65 sekund, aby zapewnić zakończenie wszystkich reakcji enzymatycznych.

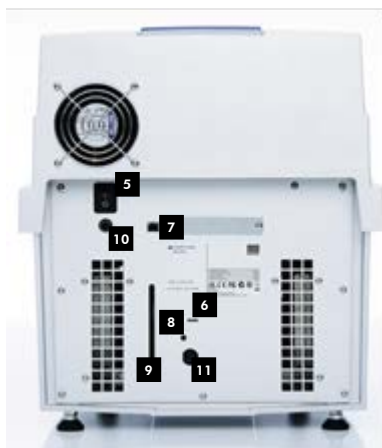
- Przyrząd zbiera dane jednocześnie ze wszystkich studzienek za pomocą 24 przetworników CCD umieszczonych pod blokiem grzejnym. Dane są przechowywane w aparacie.
- Po zakończeniu reakcji, dane są automatycznie przesyłane do pamięci USB. Jeśli pamięć USB została usunięta podczas trwania reakcji, dane można pobrać ręcznie z urządzenia.

3.4 Aparat PyroMark Q24 MDx



- Pokrywa aparatu
- Ekran
- Przyciski menu
- Port USB

Zewnętrzny wygląd urządzenia PyroMark Q24



- Wyłącznik
- Diody LED świecące się, kiedy urządzenie chłodzące jest zasilane
- Port USB (nieaktywny)
- Przycisk podświetlenia okienka poziomu płynu chłodzącego
- Okno pokazujące poziom płynu chłodzącego
- Złącze zasilania urządzenia 24V ---
- Złącze zasilania urządzenia chłodzącego 12V ---

3.4.1 Komora reakcyjna



Blok grzejny

Komora reakcyjna zawiera blok grzejny, który utrzymuje prawidłową temperaturę płytki i jej zawartości. Jeśli temperatura w pomieszczeniu jest zbyt wysoka, blok grzejny jest chłodzony przez urządzenie chłodzące aparatu PyroMark Q24 MDx (fabrycznie zainstalowane).

Dane są zbierane ze wszystkich studzienek jednocześnie przez 24 przetworniki CCD pod blokiem grzejnym. W studzienkach, w których występuje reakcja dodatnia z dodanym nukleotydem, emitowane jest światło, co prowadzi do powstania punktu szczytowego na pyrogramie. Aby umożliwić szybkie mieszanie próbek i odczynników w płytce, blok grzejny wewnątrz komory procesowej podczas cyklu stale wibruje.

3.4.2 Jednostka dozująca



Jednostka dozująca

Kartridż z odczynnikami (PyroMark Q24 Cartridge) wypełniony wymaganymi objętościami odczynników PyroMark Gold Q24 jest wprowadzany do jednostki dozującej. Przyrząd rozpoczyna dozowanie odczynników, gdy ciśnienie w jednostce dozującej, prędkość miksera i temperatury bloku grzejącego, pokrywy komory reakcyjnej i cieczy chłodzącej osiągną zadane wartości (może to potrwać kilka minut). Podczas trwania cyklu reakcji kaseta odczynnika jest umieszczana nad każdą studzienką płytki PyroMark Q24, a odczynniki są dozowane naprzemiennie za pomocą układu pneumatycznego.

3.5 Przygotowywanie próbek za pomocą próżniowej stacji roboczej PyroMark Q24 MDx

DNA, które ma być analizowane, jest amplifikowane za pomocą PCR przy użyciu 2 starterów, z których jeden jest biotynylowany. Biotynylowany produkt PCR jest następnie immobilizowany na kulkach Sepharose® pokrytych streptawidyną.

Próbki, które mają być analizowane przy użyciu urządzenia PyroMark Q24 MDx, należy przygotować zgodnie z instrukcjami zawartymi w Dziale 5.3, używając próżniowej stacji roboczej PyroMark Q24 MDx.

3.6 Oprogramowanie do analizy

Aparat PyroMark Q24 MDx jest dostarczany wraz z oprogramowaniem PyroMark Q24 MDx.

Komputer używany do konfiguracji cykli reakcji i analizy danych powinien spełniać następujące minimalne wymagania:

- System operacyjny Microsoft® Windows® 7 (wersja angielska)
- Procesor Pentium® IV (3 GHz) lub szybszy
- 100 MB wolnego miejsca na dysku twardym
- 1 GB RAM
- Monitor o rozdzielczości 1280 x 1024 pikseli
- Karta graficzna obsługująca rozdzielczość monitora

- Wskaźnik (mysz lub podobne)
- Interfejsy USB i CD-ROM

Aby wyświetlić raporty wygenerowane w formacie PDF, na komputerze musi być zainstalowany czytnik PDF. Adobe® Reader® można pobrać na stronie www.adobe.com.

4 Procedury instalacyjne

4.1 Dostawa i instalacja systemu

Rozpakowanie i instalacja PyroMark Q24 MDx jest przeprowadzana przez certyfikowanego specjalistę serwisowego QIAGEN. Osoba znająca sprzęt laboratoryjny i komputerowy w danym laboratorium, powinna być obecna podczas instalacji.

Dostarczane są następujące elementy:

- Aparat PyroMark Q24 MDx (w tym dwie pamięci USB)
- Próżniowa stacja robocza PyroMark Q24 MDx (do nabycia osobno)
- Instrukcja obsługi PyroMark Q24 MDx
- Przewodnik użytkownika oprogramowania PyroMark Q24 MDx
- Uchwyt płytki PyroMarkQ24

Odczynniki i inne akcesoria można zamówić osobno, odwiedzając stronę

www.qiagen.com/products/PyromarkQ24MDx.aspx.

4.2 Wymagania

Miejsce

Urządzenie PyroMark Q24 MDx i próżniowa stacja robocza PyroMark Q24 MDx muszą znajdować się poza bezpośrednim światłem słonecznym, z dala od źródeł ciepła, z dala od źródeł wibracji i zakłóceń elektrycznych. Warunki pracy (temperatura i wilgotność) można znaleźć w Załączniku A. Miejsce instalacji powinno być wolne od nadmiernych przeciągów, nadmiernej wilgoci, nadmiernego zapylenia i nie powinno podlegać dużym wahaniom temperatury.

Informacje na temat masy i wymiarów urządzenia PyroMark Q24 MDx i próżniowej stacji roboczej PyroMark Q24 MDx znajdują się w Załączniku A.

Należy upewnić się, że stół laboratoryjny jest równy, suchy, czysty, odporny na wibracje i ma dodatkową przestrzeń na akcesoria. Aby pomieścić aparat PyroMark Q24 MDx z otwartą pokrywą, wymagany jest prześwit około 70 cm (27 cali) nad blatem laboratoryjnym. Należy pozostawić co najmniej 10 cm wolnej przestrzeni za urządzeniem na kable.

Zdjąć blokadę transportową i piankę z modułu dozowania. Zachować blokadę transportową na wypadek transportu urządzenia w przyszłości.

Aparat PyroMark Q24 MDx należy umieścić w odległości około 1,5 m od dwóch prawidłowo uziemionych gniazd sieciowych prądu zmiennego. Linie energetyczne powinny mieć regulowane napięcie i zabezpieczenia przed przepięciami.

Uwaga: Zalecamy podłączenie urządzenia bezpośrednio do własnych gniazdek elektrycznych i nie udostępnianie gniazd zasilania innym sprzętom laboratoryjnym. Nie należy umieszczać PyroMark Q24 MDx na wibrującej powierzchni lub w pobliżu drgających obiektów.

OSTROŻNIE



Ryzyko przegrzania

Aby zapewnić odpowiednią wentylację, należy zachować minimalny odstęp 10 cm z boków i z tyłu aparatu PyroMark Q24 MDx.

Szczeliny i otwory zapewniające wentylację aparatu PyroMark Q24 MDx nie mogą być zasłonięte.

Wymagania dotyczące zasilania

Aparat PyroMark Q24 MDx działa przy:

- Mocy wejściowej 100–240 V AC, 50–60 Hz, 160 VA
- Wartości znamionowej 24 V DC, 40 W
- Wartości znamionowej chłodnicy 12 V DC, 60 W

Próżniowa stacja robocza PyroMark Q24 MDx działa przy:

- 100 V AC, 50/60 Hz, 25 VA
- 115 V AC, 60 Hz, 25 VA
- 230 V AC, 50 Hz, 25 VA

Należy upewnić się, że napięcie znamionowe PyroMark Q24 MDx jest zgodne z napięciem prądu zmiennego dostępnym w

miejscu instalacji. Wahania napięcia zasilania sieciowego nie mogą przekroczyć 10% nominalnych napięć zasilania.

Wymagania względem uziemienia

Aby chronić personel obsługujący, aparat PyroMark Q24 MDx musi być prawidłowo uziemiony. PyroMark Q24 MDx jest wyposażony w dwa 3-przewodowe kable zasilające prądu zmiennego. Aby zachować funkcję ochronną, nie należy podłączać aparatu PyroMark Q24 MDx do gniazdek prądu zmiennego, które nie mają uziemienia.

4.3 Instalacja oprogramowania do analizy

4.3.1 Instalacja lub aktualizacja oprogramowania PyroMark Q24 MDx Software

Uwaga: Jeśli komputer jest podłączony do sieci, jej ustawienia mogą uniemożliwić wykonanie tej procedury. Aby uzyskać więcej informacji, należy skontaktować się z administratorem systemu.

1. Upewnić się, że komputer spełnia minimalne wymagania; patrz: Dział 3.6.
2. Zamknąć wszystkie programy uruchomione na komputerze.
3. Włożyć dysk CD z oprogramowaniem PyroMark Q24 MDx Software do napędu CD.
4. W menu dysku CD kliknąć "Instal PyroMark Q24 MDx Software" (Zainstaluj oprogramowanie).

Jeśli menu dysku CD nie pojawi się automatycznie:

- Wybrać "(My) Computer" w menu "Start" Windows.
 - Kliknąć dysk CD z oprogramowaniem prawym przyciskiem myszy i wybrać "Otwórz".
 - Kliknąć dwukrotnie plik **autorun.exe**.
5. Postępować zgodnie z instrukcjami wyświetlanymi w "Installation Wizard" (Kreator instalacji).

Uwaga: Jeśli konieczne jest zainstalowanie .NET Framework 3.5 (instalacja jest monitorowana przez kreator instalacji), instalacja oprogramowania musi zostać uruchomiona ponownie po zakończeniu instalacji .NET Framework. Należy otworzyć menu dysku CD (patrz: krok 4) i kliknąć "Instal PyroMark Q24 MDx Software" (Zainstaluj oprogramowanie).

6. Po pomyślnym zainstalowaniu oprogramowania kliknąć "Exit Setup" w menu dysku CD.
7. Należy korzystać z witryny Windows Update (www.update.microsoft.com), aby sprawdzić wszelkie ważne aktualizacje systemu .NET Framework 3.5.

Aby wyświetlić raporty generowane przez oprogramowanie PyroMark Q24 MDx w formacie PDF, na komputerze musi być zainstalowany czytnik PDF. Adobe Reader można pobrać na stronie www.adobe.com.

4.3.2 Odinstalowywanie oprogramowania PyroMark Q24 MDx Software

1. Wybrać "Panel sterowania" w menu "Start" systemu Windows.
2. W "Panelu sterowania" kliknąć "Odinstaluj program" w kategorii Programy.
3. Na liście programów wybrać "PyroMark Q24".
4. Kliknąć "Odinstaluj".
5. Powtórzyć kroki 3. i 4. dla PyroMark Launcher.

5 Procedury operacyjne

W tym rozdziale opisano sposób obsługi PyroMark Q24 MDx.

Przed kontynuowaniem zalecamy zapoznanie się z funkcjami aparatu PyroMark Q24 MDx korzystając z Działu 3.4.

5.1 Zarządzanie aparatem

5.1.1 Ustawianie daty i godziny

Poprawne ustawienie daty i godziny zapewnia dokładną datę i godzinę w urządzeniu oraz uruchamianie dzienników i raportów analitycznych. Datę i godzinę należy ustawić w następujący sposób:

1. Gdy aparat nie pracuje, wybrać "Administration" (Administracja) w menu głównym.
2. Wybrać "Set date and time" (Ustaw datę i godzinę) za pomocą przycisków ekranowych i nacisnąć "OK".
3. Za pomocą przycisków ekranowych ◀ i ▶ wybrać parametr do edytowania.
4. Edytować wybrany parametr za pomocą przycisków ekranowych ▲ i ▼.
5. Aby edytować kolejne parametry, należy powtórzyć kroki 3 i 4.
6. Aby zapisać zmianę / zmiany, należy nacisnąć "Set".

5.1.2 Kopiowanie niezapisanych reakcji

Jeśli pamięć USB zostanie wyjęta przed zakończeniem cyklu, należy pobrać dane przeprowadzonej reakcji z aparatu w następujący sposób:

1. Gdy aparat nie pracuje, włożyć jedną z dołączonych pamięci USB do portu USB z przodu urządzenia.

2. Używając przycisków ekranowych ▲ i ▼, wybrać "Administration" (Administracja) w menu głównym i nacisnąć "OK".
3. Wybrać "Copy Unsaved Runs" (Kopiuj niezapisane reakcje) i nacisnąć "OK".
4. Za pomocą przycisków ekranowych ▲ i ▼ wybrać plik reakcji do pobrania i nacisnąć „Select” (Wybierz).
5. Gdy urządzenie potwierdzi, że plik przebiegu został zapisany na pamięci USB, należy nacisnąć "Close" (Zamknij).
6. Wyjąć pamięć USB.

5.1.3 Kopiowanie ostatnich zapisanych reakcji

Kopie plików przebiegu reakcji są przechowywane w aparacie, o ile w pamięci wewnętrznej jest wystarczająco dużo wolnego miejsca.

Uwaga: Kiedy przestrzeń staje się niewystarczająca, pliki *run* są usuwane w porządku chronologicznym. Pliki, które nigdy nie zostały zapisane na dysku USB (patrz: Dział 5.1.2), nie zostaną usunięte.

Należy skopiować ostatnio zapisane reakcje w następujący sposób:

1. Gdy aparat nie pracuje, włożyć jedną z dołączonych pamięci USB do portu USB z przodu urządzenia.
2. Używając przycisków ekranowych ▲ i ▼ wybrać "Administration" (Administracja) w menu głównym i nacisnąć "OK".
3. Wybrać "Copy Recently Saved Runs"(Kopiuj ostatnio zapisane reakcje) i nacisnąć "OK".
4. Używając przycisków ekranowych ▲ i ▼ wybrać plik uruchomienia do pobrania i nacisnąć "Select" (Wybierz).
5. Gdy urządzenie potwierdzi, że plik przebiegu został zapisany na pamięci USB, nacisnąć "Close" (Zamknij).
6. Wyjąć pamięć USB.

5.1.4 Kopiowanie plików dziennika

Jeżeli chcecie Państwo wysłać pliki dziennika do serwisu technicznego QIAGEN, pliki należy skopiować w następujący sposób:

1. Gdy aparat nie pracuje, włożyć jedną z dołączonych pamięci USB do portu USB z przodu urządzenia.
2. Używając przycisków ekranowych ▲ i ▼ wybrać "Administration" (Administracja) w menu głównym i nacisnąć "OK".
3. Wybierać "Copy Log Files" (Kopiuje pliki dziennika) i nacisnąć "OK".
4. Gdy urządzenie potwierdzi, że pliki dziennika zostały zapisane na pamięci USB, nacisnąć "Close" (Zamknij).
5. Wyjąć pamięć USB.

5.1.5 Wyodrębnianie plików przerwanych reakcji

Jeśli reakcje zostały przerwane (np. jeśli aparat został wyłączony podczas trwania reakcji), pliki można wyodrębnić w następujący sposób:

1. Gdy aparat nie pracuje, włożyć jedną z dołączonych pamięci USB do portu USB z przodu urządzenia.
2. Używając przycisków ekranowych ▲ i ▼ wybrać "Administration" (Administracja) w menu głównym i nacisnąć "OK".
3. Wybierać "Extract Damaged Runs" (Wyodrębnij przerwane reakcje) i nacisnąć "OK".
4. Gdy urządzenie potwierdzi, że pliki zostały zapisane na pamięci USB, nacisnąć "Close" (Zamknij).
5. Wyjąć pamięć USB.

5.1.6 Przeglądanie informacji, wersji i informacji kontaktowych

Potwierdzenia, wersje oprogramowania i sprzętu lub informacje kontaktowe można wyświetlić w następujący sposób:

1. Wybierać "About" w menu głównym za pomocą przycisków ekranowych ▲ i ▼ i nacisnąć "OK".

- Wybierać informacje, które chcesz wyświetlić i nacisnąć "OK".

5.1.7 Aktualizacja oprogramowania

Jeśli otrzymali Państwo aktualizację oprogramowania od QIAGEN, należy ją przeprowadzić w następujący sposób:

- Zapisać pliki aktualizacji na jednej z dostarczonych pamięci USB. Pliki powinny zostać zapisane w folderze o nazwie "Upgrade" w katalogu głównym pamięci USB.
- Gdy aparat nie pracuje, włożyć pamięć USB do portu USB z przodu urządzenia. Nie usuwać go, dopóki aktualizacja nie zostanie zakończona.
- Używając przycisków ekranowych ▲ i ▼ wybrać "Administration" (Administracja) w menu głównym i nacisnąć "OK".
- Wybierać "Upgrade Software" i kliknąć "OK".
- Postępować zgodnie z instrukcjami wyświetlanymi na ekranie.

5.1.8 Uruchamianie aplikacji zewnętrznej

Opcja menu "Run External Application" (Uruchamianie aplikacji zewnętrznej) służy do zastosowań serwisowych. Aplikację serwisową można uruchomić tylko wtedy, gdy otrzymają Państwo taką instrukcję od serwisu technicznego QIAGEN.

5.2 Nastawianie reakcji

Przed rozpoczęciem nastawiania reakcji zalecamy zapoznanie się z informacjami dotyczącymi bezpieczeństwa, korzystając z Rozdziału 1.


Szczegółowe instrukcje dotyczące konfiguracji reakcji znajdują się w *Podręczniku użytkownika oprogramowania PyroMark Q24 MDx*.

5.2.1 Uruchamianie oprogramowania PyroMark Q24 MDx Software

W menu "Start" systemu Windows wybierać "(All) Programs / PyroMark / PyroMark Q24".

Dostęp do Podręcznika użytkownika oprogramowania PyroMark Q24 MDx można uzyskać w dowolnym momencie naciskając klawisz "F1" w oprogramowaniu.

5.2.2 Konfigurowanie analizy

1. W przeglądarce skrótów kliknąć prawym przyciskiem myszy folder, w którym chcecie Państwo umieścić plik testowy i wybierać z menu kontekstowego "New Assay" (Nowy test), a następnie żądany typ testu (AQ, CpG lub SQA).
Uwaga: Aby dodać skrót do folderu w przeglądarce skrótów, należy kliknąć " Add Folder Shortcut ".
2. Wprowadzić nazwę pliku i nacisnąć "Enter".
3. W przypadku tworzenia testu AQ lub CpG, wpisać lub wkleić "Sequence to Analyze" (Sekwencja do analizy), a następnie kliknąć przycisk "Generate Dispensation Order" (Generuj kolejność dodawania). W przypadku tworzenia testu SQA, wprowadzić "Dispensation Order" (Kolejność dozowania).
4. Kliknąć  na pasku narzędzi.

Uwaga: Przed analizą nieznanych próbek należy sprawdzić test za pomocą referencyjnej próbki DNA; patrz: Załącznik B.

Uwaga: Używając zestawów QIAGEN, należy skorzystać z ustawień podanych w podręcznikach zestawów.

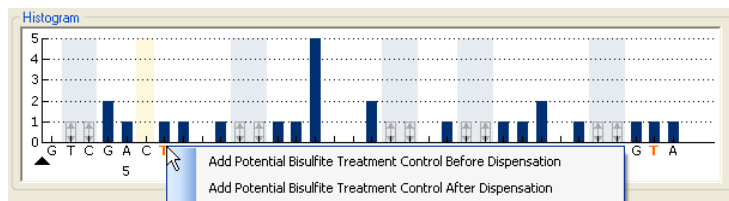
Opcjonalnie

W razie potrzeby wprowadzić notatkę dotyczącą testu i ustawić pozycje zmienne w zakładce " Variable Positions " (tylko testy AQ i CpG).

W przypadku tworzenia testu CpG zaleca się dodanie kontroli procesu obróbki DNA wodorosiarczynem. Przed obróbką

wodorosiarczynem, należy sprawdzić w sekwencji, czy sugerowane kontrole wodorosiarczynu **Cs** są przekształcone w **Ts** (odczytane jako **Gs** i **As** w odwrotnym oznaczeniu) i czy są odpowiednio jako kontrole.

Aby dodać kontrolę, należy kliknąć lewym przyciskiem myszy pogrubioną, pomarańczową literę **T** lub **A** w histogramie, najlepiej na początku sekwencji.



5.2.3 Ustawianie przebiegu analizy

1. W przeglądarce skrótów prawym przyciskiem myszy kliknąć folder, w którym ma być umieszczony plik reakcji i wybierać z menu kontekstowego polecenie "New Run" (Nowa reakcja).

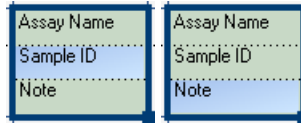
Uwaga: Aby dodać skrót do folderu w przeglądarce skrótów, należy kliknąć "Add Folder Shortcut".



2. Wprowadzić nazwę pliku i nacisnąć "Enter".
3. Wybierać "Aparat Method"; szczegółowe instrukcje znajdują się w Dziale 5.2.4.
4. Dodać test do każdej użytej studzienki, to jest przeciągnąć test z przeglądarki skrótów do studzienki lub do kilku studzienek.

Studzienka jest oznaczona kolorem zgodnym z testem załadowanym do studzienki.

Plate Setup						
	1	2	3	4	5	6
A	AQ assay 1	AQ assay 2	CpG assay 1	CpG assay 2	SQA assay 1	SQA assay 2

5. Aby wprowadzić numer identyfikacyjny próbki lub notatkę, należy wybrać komórkę i wprowadzić tekst. Wybrana komórka jest podświetlona niebieskim kolorem tła.



6. Nacisnąć  w pasku narzędzi.
7. Wydrukować listę wymaganych objętości odczynników i konfigurację płytki; wybrać "Pre Run Information" (Informacje przed rozpoczęciem reakcji) z menu "Tools" (Narzędzia) i po wyświetleniu raportu kliknąć .
8. Zamknąć plik analizy i skopiować go na jedną z dostarczonych pamięci USB.

Plik reakcji można teraz przetworzyć, wkładając pamięć USB do portu USB z przodu urządzenia PyroMark Q24 MDx (patrz: Dział 5.5.).

Opcjonalnie

W razie potrzeby, wprowadzić "Reagent ID" (np. numer partii dla odczynników PyroMark Gold Q24), identyfikator płytki "Plate ID", "Barcode" (Kod kreskowy) dla płytki i "Run note" (Notatki) w pliku roboczym.

Dalsze informacje

Istnieje kilka konfiguracji płytki. Na przykład, możliwe jest zaimportowanie i wklejenie przykładowego układu zdefiniowanego w pliku tekstowym, a następnie przeciągnięcie i skopiowanie identyfikatora próbki (jeśli ostatnia część wprowadzonego identyfikatora próbki jest liczbą). Więcej informacji można znaleźć w *Podręczniku użytkownika oprogramowania PyroMark Q24 MDx* (nacisnąć klawisz "F1" w oprogramowaniu PyroMark Q24 MDx).

Uwaga: Aby oprzeć reakcję na wcześniej wprowadzonym przebiegu reakcji, należy kliknąć prawym przyciskiem myszy wcześniejszy plik reakcji w przeglądarce skrótów i wybierać "Copy and Rerun" (Kopiuj i uruchom ponownie) z menu kontekstowego. Zostaną skopiowane tylko ustawienia reakcji, a nie dane dotyczące jej przebiegu i analizy wyników.

5.2.4 Zarządzanie metodami urządzenia



Metoda aparatu powinna być wybrana na podstawie odczynników lub kartridża, który będzie używany do badania. Numer metody wydrukowany na kartridżu PyroMark Q24 odpowiada określonym ustawieniom metody dostępnym pod adresem www.qiagen.com/Products/PyroMarkQ24MDx.aspx.

Uwaga: Zaleca się stosowanie wyłącznie metod dostarczonych przez QIAGEN.

Aby zaimportować nową metodę:

1. Ze strony internetowej powyżej należy pobrać plik metody odpowiadający numerowi metody wydrukowanemu na etykiecie kartridża. Zapisać go na komputerze z oprogramowaniem PyroMark Q24 MDx.
2. W oknie dialogowym "Aparat Methods" kliknąć "Import". Otworzy się okno dialogowe "Find Aparat Method" (Znajdź metodę aparatu).
3. Odszukać i wybrać pobraną metodę i kliknąć "Open".

Aby utworzyć nową metodę:

1. W oknie dialogowym "Aparat method" (Metoda urządzenia) wybierać istniejącą metodę i kliknąć "Save as" (Zapisz jako).
2. Wprowadzić nazwę nowej metody i nacisnąć "Enter".

3. Zmienić ustawienia metody w oknie dialogowym, aby pasowały do ustawień opublikowanych na stronie www.qiagen.com/Products/PyroMarkQ24MDx.aspx.
4. Kliknąć "Save" (Zapisz).

Parametry metody

W oknie dialogowym "Aparat Methods" dostępne są następujące parametry.

Reagent pressure (Ciśnienie odczynnika)	Ciśnienie (millibar) dozowania mieszaniny enzymów i mieszaniny substratów.
Enzyme pulse time (Czas impulsu enzyme)	Czas dozowania (milisekundy) dla mieszaniny enzymów.
Substrate pulse time (Czas impulsu substratu)	Czas dozowania (milisekundy) dla mieszaniny substratów.
Nucleotide pressure (Ciśnienie nukleotydów)	Ciśnienie (millibar) dozowania nukleotydów.
Nucleotide pulse time (Czas impulsu nukleotydowego)	Czas (milisekundy) dozowania nukleotydów.
Note (Uwaga)	Uwaga dotycząca metody aparatu (opcjonalnie).

5.3 Przygotowanie próbki

Próbki przeznaczone do analizy za pomocą aparatu PyroMark Q24 MDx należy przygotować zgodnie z poniższymi instrukcjami.

Do przygotowania próbki wymagany jest przedstawiony poniżej sprzęt i odczynniki. Wszystkie odczynniki i roztwory przed rozpoczęciem powinny być w temperaturze pokojowej (15-25°C). Wszystkie etapy są przeprowadzane w temperaturze pokojowej, o ile nie zaznaczono inaczej.

Sprzęt i odczynniki dostarczane przez użytkownika

- Próżniowa stacja robocza PyroMark Q24 MDx
- Mikser na mikro płytki do unieruchamiania na kulkach
- Blok grzewczy zdolny do osiągnięcia temperatury 80°C
- Płytki PyroMark Q24 Plate
- 24-dołkowe płytki lub paski do PCR
- Kartridż PyroMark Q24
- Paski z zatyczkami
- Streptavidin Sepharose High Performance (34 µm, 5 ml, GE Healthcare; patrz www.gelifesciences.com)
- Testy QIAGEN przeznaczone do pirosekwencjonowania oznaczone symbolem znakiem IVD
- Woda o wysokiej czystości (Milli-Q 18,2 MΩ x cm lub jej odpowiednik)
- Etanol (70%)
- Bufor wiążący PyroMark Binding Buffer
- Roztwór do denaturacji PyroMark Denaturation Solution
- Koncentrat bufor do płukania PyroMark Wash Buffer
- Bufor do annealingu PyroMark Annealing Buffer

5.3.1 Test działania funkcji próżniowej stacji roboczej PyroMark Q24 MDx

Przed użyciem próżniowej stacji roboczej PyroMark Q24 MDx należy sprawdzić, czy sondy filtra działają prawidłowo, wykonując test działania w następujący sposób:

1. Dodać 100 µl wody o wysokiej czystości do każdej studzienki 24-dołkowej płytki do PCR.
2. Napełnić korytko 70 ml wody o wysokiej czystości.
3. Uruchomić pompę próżniową.
4. Podłączyć podciśnienie do przyrządu do przygotowywania próbek, otwierając włącznik próżniowy.
5. Opuścić sondy filtra do korytka. Trzymać je w tej pozycji przez około 20 sekund. Upewnić się, że woda jest przenoszona do pojemnika na odpady, tj. że zastosowano próżnię. Jeśli nie, sprawdzić połączenia.
6. Obniżyć sondy filtrujące do płytki PCR i sprawdzić, czy woda jest zasysana równomiernie przez wszystkie studzienki i czy wszystkie studzienki są puste po maksymalnie 10 s.

7. Jeśli studzienki nie są puste po 10 s, powtórzyć procedurę od kroku 1. Jeśli test funkcjonalny dwukrotnie zakończy się niepowodzeniem, należy wymienić sondy filtra (patrz: Dział 6.3.2).

5.3.2 Amplifikacja DNA

W reakcji PCR należy amplifikować DNA, które ma być analizowane, stosując jeden z biotynylowanych starterów. Aby otrzymać poprawne dane analizy należy zapoznać się z Załącznikiem B.

5.3.3 Unieruchomienie produktu PCR przy pomocy kulek

Biotynylowane produkty PCR są unieruchamiane na kulkach Sepharose pokrytych streptawidyną (Streptavidin Sepharose High Performance, GE Healthcare).

1. Delikatnie wstrząsać butelką z kulkami Sepharose pokrytymi streptawidyną, aż do uzyskania jednorodnego roztwór.
2. Zmieszać w probówce całkowitą ilość kulek Sepharose pokrytych streptawidyną (2 µl na próbkę) i bufor wiążący (40 µl na próbkę). Dodać wodę o wysokiej czystości do całkowitej objętości 80 µl na studzienkę, wliczając w to produkt PCR dodawany w etapie 4.
Ilość wody zależy od ilości użytego produktu PCR. Na przykład: jeśli stosuje się 15 µl produktu PCR, 2 µl kulek i 40 µl buforu wiążącego, należy dodać 23 µl wody o wysokiej czystości.
3. Dodać roztwór przygotowany w etapie 2 do 24-dołkowej płytki lub stripów PCR.
4. Dodać 5-20 µl dobrze zoptymalizowanego, biotynylowanego produktu PCR do każdego dołka płytki PCR (lub pasków) zgodnie z ustawieniem płytki (patrz: Dział 5.2.3).

Uwaga: W przypadku użycia zestawu PyroMark PCR Kit, 5-10 µl produktu PCR w większości przypadków daje zadowalające wyniki reakcji pirosekwencjonowania. Objętość powinna być tak dostosowana, aby osiągać

pojedyncze wysokości punktów szczytowych na poziomie co najmniej 40 RLU na pyrogramie.

Uwaga: Całkowita objętość w studzienkach powinna wynosić 80 µl.

5. Zamknąć płytkę PCR (lub paski) za pomocą paska z korkami. Upewnić się, że nie ma możliwości wycieku między studzienkami.
6. Wstrząsać płytkę PCR (lub paski) przez co najmniej 5-10 minut za pomocą miksera (1400 obr./min).

Uwaga: kulki Sepharose szybko sedimentują, więc ich odzysk musi nastąpić natychmiast po zakończeniu mieszania.

Uwaga: Podczas immobilizacji należy przygotować próżniową stację roboczą do przygotowania próbek (kroki 1-8 w Dziale 5.3.4).

5.3.4 Rozdział nici DNA i przenoszenie próbek na płytkę PyroMark Q24

UWAGA



Niebezpieczne substancje chemiczne

Roztwór do denaturacji stosowany w stacji roboczej zawiera wodorotlenek sodu, który działa drażniąco na oczy i skórę. Należy zawsze nosić okulary ochronne, rękawice i fartuch laboratoryjny. Osoba odpowiedzialna (np. kierownik laboratorium) musi podjąć niezbędne środki ostrożności w celu zapewnienia, że otoczenie w miejscu pracy jest bezpieczne i że operatorzy urządzenia są odpowiednio przeszkoleni. Nie mogą oni być narażeni na działanie niebezpiecznych poziomów substancji toksycznych jak określono w obowiązujących Kartach Charakterystyki Substancji Niebezpiecznych (MSDS) lub OSHA*, ACGIH† czy COSHH‡.

Więcej informacji znajduje się na stronie

www.qiagen.com/support/msds.aspx

Wietrzenie i unieszkodliwianie odpadów musi być przeprowadzane zgodnie ze wszystkimi krajowymi i lokalnymi przepisami dot. zdrowia i bezpieczeństwa pracy.

* OSHA: Administracja Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (Stany Zjednoczone).

† ACGIH: Amerykańska Konferencja Rządowych Higienistów Przemysłowych (Stany Zjednoczone)

‡ COSHH: Kontrola substancji zagrażających zdrowiu (Wielka Brytania).

Przygotowania

Podgrzać jeden z dostarczonych uchwytów płytek PyroMark Q24, aby był gotowy do użycia w punkcie 5.3.5, umieszczając go (bez płytki) na bloku grzejnym w temperaturze 80°C.

Procedura

1. Upewnić się, że próżniowa stacja robocza PyroMark Q24 MDx została prawidłowo i bezpiecznie zamontowana.



Wtyczka sieciowa powinna być łatwo dostępna, na wypadek konieczności szybkiego odłączenia pompy próżniowej od zasilania sieciowego.

Uwaga: Wykonać test działania, aby upewnić się, że sondy filtrujące działają prawidłowo (patrz: Dział 5.3.1). Wszystkie sondy filtrujące należy wymienić po przygotowaniu około 100 płytek.

Uwaga: W razie potrzeby opróżnić pojemnik na odpady (patrz: Dział 5.6.2).

2. Wypełnić pięć oddzielnych korytek dostarczanych ze stacją próżniową PyroMark Q24 MDx w następujący sposób:

- Około 50 ml etanolu (70%) (1)
- Około 40 ml roztworu do denaturacji (2)
- Około 50 ml 1x buforu do przemywania (3)
- Około 50 ml wody o wysokiej czystości (4)
- Około 70 ml wody o wysokiej czystości (5)

Sugerowana konfiguracja przygotowania próbki jest pokazana na poniższym rysunku. Korytka należy uzupełnić do tych poziomów w razie potrzeby.



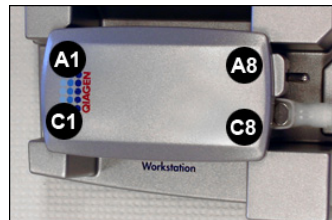
3. Włączyć pompę próżniową.
4. Doprowadzić podciśnienie do pompy, otwierając przełącznik próżniowy.
5. Umyć sondy filtrujące, opuszczając je do wody o wysokiej czystości. Przepłukać sondy za pomocą 70 ml wody o czystości.

Upewnić się, że woda jest przenoszona do pojemnika na odpady. Jeśli tak nie jest, upewnić się, że przewód jest

prawidłowo podłączony i nie jest uszkodzony. Zniszczone przewody należy wymienić (patrz: Dział 6.3.4).

Upewnić się, że filtr odpadów jest suchy. Jeśli jest mokry, należy go wymienić (patrz: Dział 6.3.5).

6. Zamknąć wyłącznik próżniowy na pompie (Off) i umieść ją w pozycji "Parking".
7. Uzupelnąć korytko 5 przy użyciu 70 ml wody o wysokiej czystości.
8. Rozcieńczyć starter sekwencjonujący do 0,3 μ M w buforze do annealingu. Dodać 25 μ l tego roztworu do każdej studzienki w płytce PyroMark Q24, która ma być użyta.
Uwaga: Używać jednego z dostarczonych uchwytów na płytce PyroMark Q24 jako wsparcia podczas przygotowywania i przenoszenia płytki.
9. Natychmiast po immobilizacji (patrz: Dział 5.3.3), umieść płytkę PCR (lub paski) i płytkę PyroMark Q24 na stole roboczym. Upewnij się, że płytki są w tym samym położeniu, co podczas nakładania próbek; patrz: rysunek poniżej, aby uzyskać wskazówki.



10. Doprowadzić podciśnienie do pompy, otwierając przełącznik próżniowy.
11. Ostrożnie opuścić sondy filtrujące do płytki (lub pasków) do PCR, aby wychwycić kulki zawierające unieruchomioną matrycę. Przytrzymać sondy w tym miejscu przez 15 sekund. Zachować ostrożność podczas podnoszenia uchwytu.
Uwaga: Kulki Sepharose szybko sedimentują. Jeśli minęła więcej niż 1 minuta od czasu wstrząsania płytki (lub pasków), należy wymieszać ich zawartość ponownie przez 1 minutę przed wychwyceniem kulek.

12. Upewnić się, że cała ciecz jest wyszana ze studzienek i że wszystkie kulki zostały uchwycone na końcówkach sond z filtrami.

Uwaga: Jeśli studzienki nadal zawierają ciecz lub pozostają w nich białe kulki, sondy filtrujące mogą wymagać wymiany (patrz: Dział 6.3.2).

13. Przenieść uchwyt do korytka zawierającego 70% etanol. Płukać sondy przez 5 sekund.
14. Przenieść uchwyt do korytka zawierającego roztwór do denaturacji. Płukać sondy przez 5 sekund.
15. Przenieść narzędzie do korytka zawierającego bufor do przemywania. Płukać sondy przez 10 sekund.
16. Podnieść narzędzie do pionu (kąąt ponad 90° w pionie) na 5 s, aby spuścić ciecz z sond (patrz: rysunek poniżej).



17. Trzymając narzędzie nad płytką PyroMark Q24, zamknąć przełącznik próżniowy na uchwycie (Off).
18. Uwolnić kulki do płytki zawierającej starter sekwencyjny, delikatnie potrząsając narzędziem z boku na bok.
19. Przy zamkniętym przełączniku próżni (Off), przenieść narzędzie do korytka zawierającego wodę o wysokiej czystości i mieszać przez 10 sekund.

20. Umyć sondy filtracyjne, opuszczając je do drugiego korytka z wodą o wysokiej czystości i włączając podciśnienie. Przepłukać sondy 70 ml wody o wysokiej czystości.
21. Podnieść narzędzie poza 90° w pionie na 5 s, aby spuścić ciecz z sond filtra.
22. Zamknąć wyłącznik próżniowy na uchwycie (Off) i umieścić go w pozycji Parking (P).
23. Jeśli przygotowano więcej niż jedną płytkę na raz, uzupełnić korytka (krok 2) i powtórzyć procedurę od kroku 8.
24. Wyłączyć pompę próżniową.
25. Pod koniec dnia pracy, odpady płynne i wszelkie pozostałe roztwory należy wyrzucić, a stanowisko robocze pompy próżniowej PyroMark Q24 MDx należy sprawdzić pod względem zapylenia i rozlania (patrz: [Dział 5.6.2](#))

5.3.5 Annealing startera sekwencjonującego do próbek

UWAGA 	Gorąca powierzchnia Statyw na płytce i blok grzejny (do annealingu) mogą osiągać temperatury do 80°C (176°F). Nie należy ich dotykać, gdy są gorące.
---	--

1. Podgrzewać płytkę PyroMark Q24 zawierającą próbki w temperaturze 80°C przez 2 min, używając uchwytu na płytce PyroMark Q24 (dwa takie uchwyty są dostarczane ze stacją próżniową) i bloku grzejnego.
2. Zdjąć płytkę z uchwytu i pozostawić próbki do ostygnięcia do temperatury pokojowej (15-25°C) przez co najmniej 5 minut. Płytkę można teraz włożyć do aparatu PyroMark Q24 MDx.

5.4 Przygotowanie odczynników PyroMark Gold Q24

UWAGA



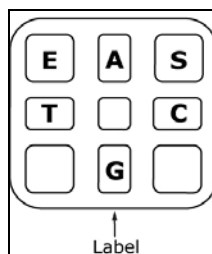
Ostre igły

Nie dotykać ostrych igieł na spodzie kartridża z odczynnikami. Z igłami obchodzić się ostrożnie. Małe cząsteczki i włókna mogą zablokować igły.

1. Otworzyć pudełko z odczynnikami PyroMark Gold Q24 i wyjąć próbówki zawierające zliofilizowane enzymy i mieszaniny substratów oraz próbówki zawierające nukleotydy.
2. Doprowadzić odczynniki do wymaganych objętości i wypełnić kartridż PyroMark Q24 zgodnie z instrukcją dostarczoną wraz z odczynnikami.

Uwaga: Wymagane objętości odczynników są wymienione w raporcie " Pre Run Information " (patrz: Dział 5.2.3).


Uwaga: Upewnić się, że wszystkie ponownie używane kartridże z odczynnikami są dokładnie oczyszczone, zgodnie z instrukcjami w Dziale 5.5.5. Zaleca się, aby kartridż z odczynnikami był używany maksymalnie 30 razy. Jeśli kartridż z odczynnikami nie był używany przez 4 tygodnie lub dłużej (np. był przechowywany), należy go wyczyścić i sprawdzić, czy można go ponownie użyć do analizy, wykonując test działania (kroki 4-6 w Dziale 5.5.5).




Widok z góry na kartridż PyroMark Q24.

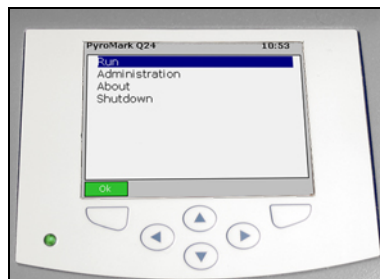
5.5 Przeprowadzanie reakcji na aparacie PyroMark Q24 MDx

Pokrywa urządzenia PyroMark Q24 MDx musi pozostać zamknięta podczas pracy aparatu. Dźwiękowy sygnał ostrzegawczy ostrzega o otwarciu pokrywy, gdy nie jest to bezpieczne.

<p>UWAGA</p> 	<p>Ruchome części</p> <p>Aby uniknąć kontaktu z ruchomymi częściami podczas pracy urządzenia PyroMark Q24 MDx, aparat należy obsługiwać przy zamkniętej pokrywie.</p> <p>Nie usuwać paneli osłonowych, ponieważ w środku nie ma żadnych części, które może naprawić użytkownik. W razie problemów z urządzeniem PyroMark Q24 MDx należy natychmiast skontaktować się z działem technicznym QIAGEN.</p>
---	---

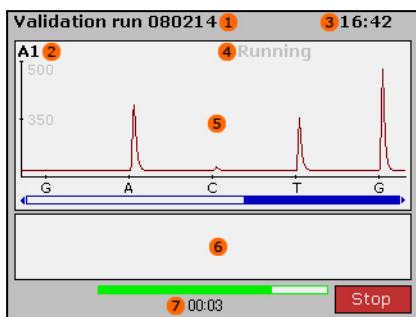
<p>UWAGA</p> 	<p>Ostre igły</p> <p>Nie dotykać ostrych igieł na spodzie kartridża z odczytnikiem. Z igłami obchodzić się ostrożnie. Małe cząsteczki i włókna mogą zablokować igły.</p>
---	---

5.5.1 Oprogramowanie urządzenia



Urządzenie obsługiwane jest za pomocą sześciu przycisków pod ekranem.

Reakcje są uruchamiane i monitorowane za pomocą oprogramowania. Podczas przebiegu reakcji program wyświetla następujące informacje:



1. Run name (Nazwa reakcji)
2. Selected well (Wybrana studzienka)
3. Current time (Aktualny czas)
4. Aparat status (Status urządzenia)
5. Pyrogram
6. Warning messages (Komunikaty ostrzegawcze)
7. Przybliżony pozostały czas (hh:mm)

5.5.2 Uruchamianie urządzenia

1. Przed włączeniem urządzenia należy upewnić się, że wtyczki sieciowe są podłączone do odpowiednio uziemionych gniazd sieciowych o odpowiednim napięciu i częstotliwości. Upewnić się, że wtyczki sieciowe są łatwo dostępne, jeśli urządzenie wymagałoby szybkiego odłączenia od zasilania sieciowego.
2. Włączyć aparat. Przełącznik zasilania znajduje się z tyłu urządzenia (patrz: zdjęcie w Dziale 3.4).

5.5.3 Start reakcji

Załadować kartridż z odczynnikami i płytkę:

1. Gdy aparat nie pracuje, otworzyć pokrywę. Dźwiękowy sygnał ostrzegawczy ostrzega o otwarciu pokrywy, gdy nie jest to bezpieczne.
2. Otworzyć kłapkę miejsca na kartridż i włożyć go etykietą skierowaną na zewnątrz. Wepchnąć wkład do końca, a następnie docisnąć do dołu (patrz: zdjęcie poniżej).
3. Upewnić się, że kartridż jest prawidłowo zamontowany, równo z linią widoczną przed kasetą, a następnie zamknąć kłapkę.
4. Otworzyć ramkę przytrzymującą płytkę i umieścić płytkę na bloku grzejnym wewnątrz urządzenia.

5. Zamknąć ramkę przytrzymującą płytę i pokrywę urządzenia.



Wybrać plik reakcji i uruchomić ją:

1. Włożyć pamięć USB zawierającą plik reakcji do portu USB z przodu urządzenia.
2. Używając przycisków ekranowych ▲ i ▼, wybrać "Run" (Uruchom) w menu głównym i nacisnąć "OK".
3. Wybierać plik reakcji za pomocą przycisków ekranowych ▲ i ▼.

Aby wyświetlić zawartość folderu, wybierać folder i nacisnąć "Select" (Wybierz). Aby wrócić do poprzedniego widoku, nacisnąć "Back" (Wstecz).

4. Po wybraniu pliku reakcji nacisnąć "Select" (Wybierz), aby rozpocząć bieg reakcji.

5.5.4 Monitorowanie przebiegu reakcji

Przyrząd zacznie odmierzać odczynniki, gdy ciśnienie w jednostce dozującej, prędkość miksera i temperatury bloku grzejnego, pokrywki komory reakcyjnej i cieczy chłodzącej osiągną zadane poziomy.

Status urządzenia

Status urządzenia wyświetlany jest w prawym górnym rogu obszaru pyrogramu.

Uruchomienie

Mieszanekę enzymów i mieszanekę substratu dozuje się do wszystkich wykorzystywanych dołków. Następnie nukleotydy są dozowane do studzienek zgodnie z ich porządkiem dyspensacji, który jest zdefiniowany w pliku testowym.

Environment Środowisko	Oczekiwanie na ciśnienie w jednostce dozującej odczynnik, prędkość miksera i temperatury bloku grzejnego, pokrywy komory procesowej i płynu chłodzącego, aby osiągnąć ich ustalone poziomy (może potrwać kilka minut)
Priming Płukanie	Przepłukiwanie igieł kartridża z odczynnikami w celu zapewnienia, że kapilary dozujące są przepłukane i napełnione roztworem.
Running Bieg reakcji	Mieszanina enzymów i mieszanina substratów jest dozowana do wszystkich wykorzystywanych dołków. Następnie nukleotydy są dozowane do dołków zgodnie z ich porządkiem, który jest zdefiniowany w pliku testowym.
Stopped Zatrzymanie	Bieg reakcji został zatrzymany.
Saving Zapisywanie	Dane przebiegu reakcji są przesyłane do pamięci USB. Nie należy wyjmować pendrive'a, dopóki aparat nie potwierdzi, że plik przebiegu reakcji został zapisany.
Finished Zakończenie	Reakcja została zakończona, a dane z jej przebiegu zostały przeniesione na pamięć USB.

Pyrogram i ostrzeżenia

Nazwa reakcji i wybrana studzienka są wyświetlane w lewym górnym rogu. Aby wybrać inną studzienkę, należy użyć przycisków ekranowych ▲ i ▼.

Ostrzeżenia dotyczące każdego urządzenia są wyświetlane poniżej obszaru pyrogram (wyświetlane są trzy ostatnie ostrzeżenia). Sugerowane działania, patrz: Dział

Przerywanie reakcji

Aby przerwać bieg reakcji, nacisnąć "Stop".

5.5.5

Po zakończeniu reakcji

1. Gdy urządzenie potwierdzi, że plik przebiegu reakcji został zapisany na pamięci USB, nacisnąć "Close".
2. Wyjąć pamięć USB.
3. Otworzyć pokrywę urządzenia.
4. Otworzyć klapkę i wyjąć kartridż z odczynnikiem, unosząc go i wyciągając.
5. Zamknąć klapkę.
6. Otworzyć ramkę przytrzymującą płytkę i wyjąć ją z bloku grzejnego.
7. Zamknąć ramkę przytrzymującą płytkę i pokrywę urządzenia.
8. Wyrzucić płytkę.
9. Jeśli kartridż ma zostać ponownie użyty, wyczyścić go zgodnie z poniższymi instrukcjami.
10. Jeśli była to ostatnia reakcja tego dnia, postępować zgodnie z instrukcjami w Dziale 5.6.

Uwaga: Należy przestrzegać wszystkich krajowych, stanowych i lokalnych przepisów środowiskowych dotyczących usuwania odpadów laboratoryjnych.

Czyszczenie i testowanie kartridża z odczynnikiem

Jeśli kartridż z odczynnikiem ma być ponownie użyty, należy go wyczyścić natychmiast po użyciu i sprawdzić, czy można go

wykorzystać do analizy. Zaleca się, aby kaseeta z odczynnikami była używana maksymalnie 30 razy.

UWAGA



Ostre igły

Nie dotykać ostrych igieł na spodzie kartridża z odczynnikami. Z igłami obchodzić się ostrożnie. Małe cząsteczki i włókna mogą zablokować igły.

Uwaga: Należy przestrzegać wszystkich krajowych, stanowych i lokalnych przepisów środowiskowych dotyczących usuwania odpadów laboratoryjnych.

Wymagane są następujące rzeczy:

- Bezpudrowe rękawice
- Woda o wysokiej czystości (Milli-Q 18.2 MΩ x cm lub równoważny)
- Zlewka (nie zawsze wymagana)
- Niestrzępiące się ściereczki

Aby wyczyścić i sprawdzić, czy kartridż można wykorzystać do analizy:

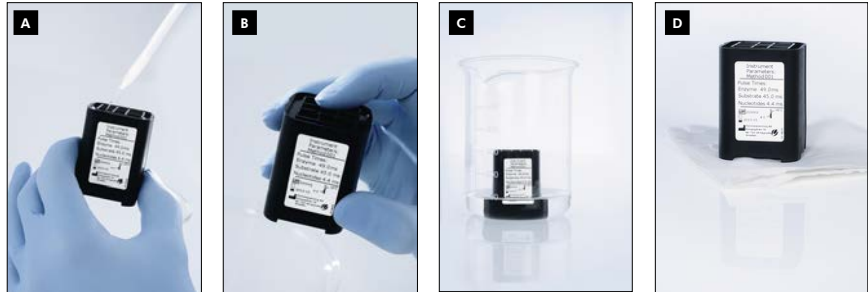
1. Usunąć wszelkie roztwory pozostałe we wkładzie.
2. Przepłukać pojemniki kartridża 4 razy wodą o wysokiej czystości.
3. Spryskać zewnętrzną część igieł wodą o wysokiej czystości.
4. Sprawdzić, czy igły kartridża nie są zablokowane lub uszkodzone:

Całkowicie napełnić komory wodą o wysokiej czystości. Przytrzymać kasetę nad zlewem lub zlewką, jednocześnie mocno naciskając palcami w górnej części każdego przedziału (założyć rękawice bezpudrowe). Strumień wody powinien wychodzić prosto z końca każdej igły.

5. Jeśli igła jest zablokowana, wykonać krok 5a. Jeśli strumień wody wydostaje się z igły pod kątem (nie równoległe do kierunku igły), wykonać krok 5b. Jeśli wszystkie igły działają poprawnie, przejść do kroku 6.
- 5a. Jeśli igła jest zablokowana (na przykład, jeśli kartridż z odczynnikami został pozostawiony na noc bez

czyszczenia), należy wypełnić komory wodą o wysokiej czystości i zanurzyć wkład w zlewce z wodą o dużej czystości tak, by przykryć igły. Pozostawić pojemnik w zlewce na 1 godzinę, opłukać i powtórzyć krok 4. Przejść do kroku 6.

5b. Jeśli strumień wody wypływa pod kątem, należy uzupełnić zbiornik wodą i powtórzyć krok 4. Jeśli woda nadal wychodzi pod kątem, należy wyrzucić kartridż.



Procedura czyszczenia kartridża PyroMark Q24.

- A** Napełnianie komór kartridża wodą o wysokiej czystości
 - B** Sprawdzanie zablokowania lub uszkodzenia igieł
 - C** Czyszczenie zablokowanych igieł
 - D** Suszenie wkładu na niestrzępiącej się ściereczce
6. Po przepłukaniu i przetestowaniu wszystkich igieł należy usunąć wodę i pozostawić kasetę z odczynnikami do wyschnięcia na niestrzępiącej się ściereczce.
7. Gdy kartridż jest suchy, należy przechowywać go w kuwecie końcówek PyroMark Q96 HS, aby chronić go przed kurzem i światłem [słonecznym].

5.5.6 Analizowanie reakcji

Szczegółowe instrukcje dot. analizy badania są dostępne w instrukcji *PyroMark Q24 MDx Software User Guide* (w programie PyroMark Q24 MDx Software wcisnąć klawisz "F1").

1. Przenieść plik z przeprowadzonego badania z pamięci USB na komputer z uruchomionym programem PyroMark Q24 MDx Software.
2. Otworzyć plik przez podwójne kliknięcie (☑) w przeglądarce skrótów. Jeśli znajdują się tam różne rodzaje testów, w oknie dialogowym, które się otworzy, należy wybrać tryb analizy
Aby dodać skrót do pliku lub folderu w przeglądarce skrótów należy kliknąć „Add File Shortcut” (Dodaj skrót do pliku) lub “Add Folder Shortcut” (Dodaj skrót do folderu).
3. W zakładce “Overview” (Podsumowanie), należy albo przeanalizować wszystkie studzienki, albo wybrane studzienki zgodnie ze zwalidowanym nastawieniem analizy dla wybranego trybu testu.



Tryby analizy

Program PyroMark Q24 MDx Software posiada trzy tryby analizy: AQ, CpG i SQA. Aby przełączać pomiędzy trybami analizy należy zaznaczyć “AQ”, “CpG” lub “SQA” w pasku narzędzi. Genotypowanie SNP i InDel jest dostępne z poziomu menu “Reports” (Raporty) w trybie AQ.

Uwaga: Sposób przeprowadzania analizy można zmienić w zakładce “Analysis Setup” (Ustawienia analizy).


5.5.7 Przeglądanie wyników analizy


Po wybraniu analizowanej studzienki w zakładce “Overview” (Podsumowanie) w obszarze pyrogramu pojawi się odpowiedni wykres, a w obszarze “Well Information” pojawią się informacje o studzience (w tym ostrzeżenia dot. analizy).



Ocena jakości

Przegląd płytki w zakładce “Overview” pozwala na szybkie podsumowanie oceny jakości.

: Przedstawia ocenę jakości wszystkich pozycji zmiennych w studzience lub wszystkich zasad w sekwencji typu base-called.

: Przedstawia ocenę jakości pod koniec okna kontroli jakości (tylko w badaniach SQA)

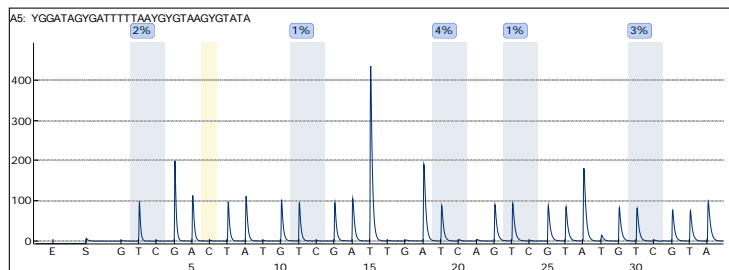
Kolory jakości

- Niebieski: Passed (Zaliczone)
- Żółty: Check (Sprawdź)
- Czerwony: Failed (Nie zaliczone)
- Biały: Nie analizowano*

* Analiza nie jest możliwa przy użyciu tego programu (np. analiza SNP w trybie analizy CpG) lub pozycja zmienna została odznaczona przez użytkownika (wyłącznie w badaniach AQ i CpG).

Wyniki analizy AQ

Częstotliwość alleli jest wyświetlona na pyrogramie, np. A: 96% i G: 4% i A.T: 44% (InDel). Ocena jakości jest pokazana jako kolor w tle wyniku



Przykładowy pyrogram badania CpG. Pozycje zmienne w badaniach AQ i CpG są zaznaczone jako niebiesko-szare tło, kontrole obróbki wodorosiarczanem i badaniach CpG mają w tle kolor żółty.

Analiza wyników CpG

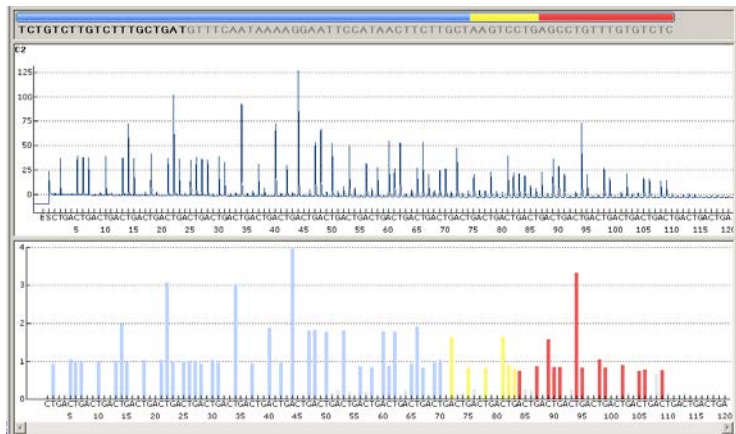
Procenty metylacji są przedstawione na pyrogramie, np. jako 96%. Ocena jakości jest wyświetlana jako kolor tła wyniku.

Pasek metylacji w podsumowaniu płytki wskazuje poziom metylacji każdego miejsca w studziencie.

- Jasny zielony: Poniżej spodziewanej skali
- Zielony: W spodziewanej skali
- Ciemny zielony: Powyżej spodziewanej skali

Analiza wyników SQA

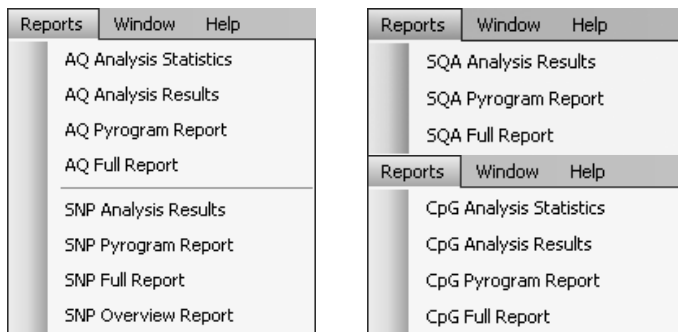
Sekwencja typu base-called jest wyświetlana w zakładce “Overview” (Podsumowanie). Zasady w sekwencjach typu base-called i punkty szczytowe na zrekompensowanym pyrogramie mają kolor zgodny z oceną ich jakości.



Przykład sekwencji typu base-called i pyrogramu badania SQA.

5.5.8 Raporty analizy

Aby wygenerować raport należy wybrać potrzebną formę z menu “Reports”. Więcej informacji nt. raportów można znaleźć w dziale “Przeglądanie, Drukowanie i Zapisywanie Raportów Analizy” instrukcji *PyroMark Q24 MDx Software User Guide* (w programie PyroMark Q24 MDx Software wcisnąć klawisz „F1”).




Aby przeglądać raporty wygenerowane w formacie PDF potrzebny jest czytnik PDF zainstalowany na komputerze. Na stronie www.adobe.com można znaleźć i pobrać program Adobe® Reader.

5.6 Kończenie pracy i zamykanie

5.6.1 Zamykanie urządzenia

1. Kiedy urządzenie nie pracuje, przy pomocy przycisków ▲ i ▼ znajdujących się na ekranie wybrać "Shutdown" (Zamykanie) z głównego menu i nacisnąć "OK".
2. Kiedy pojawi się komunikat "It is now safe to turn off the aparat" (Można teraz bezpiecznie wyłączyć urządzenie) należy wyłączyć urządzenie. Wyłącznik zasilania znajduje się z tyłu urządzenia.

5.6.2 Opróżnianie pojemnika na odpady i korytek

<p>UWAGA</p> 	<p>Niebezpieczne substancje chemiczne</p> <p>Roztwór do denaturacji stosowany w stacji roboczej zawiera wodorotlenek sodu, który działa drażniąco na oczy i skórę. Należy zawsze nosić okulary ochronne, rękawice i fartuch laboratoryjny. Osoba odpowiedzialna (np. kierownik laboratorium) musi podjąć niezbędne środki ostrożności w celu zapewnienia, że otoczenie w miejscu pracy jest bezpieczne i że operatorzy urządzenia są odpowiednio przeszkoleni. Nie mogą oni być narażeni na działanie niebezpiecznych poziomów substancji toksycznych, jak określono w obowiązujących Kartach Charakterystyki Substancji Niebezpiecznych (MSDS) lub OSHA*, ACGIH† czy COSHH‡.</p> <p>Więcej informacji znajduje się na stronie www.qiagen.com/support/msds.aspx</p> <p>Wietrzenie i unieszkodliwianie odpadów musi być przeprowadzane zgodnie ze wszystkimi krajowymi, stanowymi i lokalnymi przepisami dot. zdrowia i bezpieczeństwa pracy.</p>
---	---

* OSHA: Administracja Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (Stany Zjednoczone).

† ACGIH: Amerykańska Konferencja Rządowych Higienistów Przemysłowych (Stany Zjednoczone)

‡ COSHH: Kontrola substancji zagrażających zdrowiu (Wielka Brytania).

Należy upewnić się, że przy usuwaniu odpadów laboratoryjnych przestrzegane są wszystkie narodowe, stanowe i lokalne przepisy w zakresie ochrony środowiska

Wymagana jest następująca rzecz:

- Woda o wysokiej czystości (Milli-Q 18,2 MΩ x cm lub odpowiednik)

Procedura

1. Należy upewnić się, że próżniowa stacja robocza nie wytwarza próżni, tzn. wyłącznik znajduje się w pozycji Off, a pompa próżniowa jest wyłączona.
2. Usunąć wszelkie pozostałe substancje z korytek.
3. Przepłukać korytka wodą o wysokim stopniu czystości lub wymienić je, jeśli jest taka konieczność.

- Opróżnić pojemnik na odpady.
Uwaga: Pokrywą można zdjąć bez konieczności odłączania przewodu.
- Jeśli istnieje potrzeba wyczyszczenia próżniowej stacji roboczej (np. z powodu kurzu lub rozlanej cieczy), należy postępować zgodnie z instrukcją z Działu 6.3.

5.6.3 Sprawdzenie urządzenia

Sprawdzić, czy urządzenie nie jest zakurzony lub zalane. Jeśli urządzenie wymaga czyszczenia, postępować zgodnie z instrukcją z Działu 6.2.

Nacisnąć przycisk „Light button” (Światło) z tyłu urządzenia (patrz: zdjęcie poniżej) i sprawdzić, czy poziom płynu chłodzącego jest widoczny w okienku. Jeśli nie, skontaktować się z Serwisami Technicznymi QIAGEN.



5.7 Kopia zapasowa plików PyroMark Q24

Dane wygenerowane przez program PyroMark Q24 MDx Software są przechowywane na komputerze jako pliki z następującymi rozszerzeniami:

- *.pyrorun (pliki protokołu)
- *.pyrosetup (pliki badania).

Należy regularnie tworzyć kopię zapasową plików. Można to zrobić kopiując pliki PyroMark Q24 (*.pyrorun i *.pyrosetup) do innej lokalizacji. Alternatywna lokalizacja powinna znajdować się na osobnym dysku fizycznym lub trwałym nośniku danych.

Więcej informacji nt. tworzenia kopii zapasowych uzyskacie Państwo u swoich administratorów.

6 Koserwacja

Poniższe procedury konserwacji urządzenia PyroMark Q24 MDx są niezbędne do zapewnienia jego wiarygodnej pracy:

- Regularne kontrole wydajności
- Czyszczenie urządzenia

Przestrzeganie tych zaleceń pozwoli mieć pewność, że urządzenie PyroMark Q24 MDx jest wolne od kurzu i rozlanych cieczy.

Przed podjęciem kroków w zakresie prawidłowego utrzymania urządzenia, należy zapoznać się z informacjami dot. bezpieczeństwa, przedstawionymi w Dziale 1.

Ważne: Przed rozpoczęciem czyszczenia należy odłączyć urządzenie od prądu.

Serwisowanie

Firma QIAGEN oferuje obszerne umowy w zakresie usług serwisowych, w tym przedłużania gwarancji, umowy w zakresie pełnej obsługi, a także szkolenie z zakresu system/stosowania urządzenia, łącznie z montażem na miejscu i rocznymi przeglądami technicznymi. Umowy w zakresie usług serwisowych pozwalają na zapewnienie maksymalnej produktywności i wysokiej wydajności Państwa systemu. Dodatkowo, wszelkie prace serwisowe są w pełni dokumentowane, a wszystkie części posiadają certyfikat i gwarancję.

Więcej informacji nt. dogodnych umów w zakresie wsparcia serwisowego firmy QIAGEN można uzyskać przez kontakt z Lokalnym Serwisantem Firmy QIAGEN lub lokalnym dystrybutorem.

6.1 Sprawdzanie wydajności PyroMark Q24 MDx

Należy upewnić się, że PyroMark Q24 MDx działa zgodnie ze specyfikacją przez zmierzenie nieprecyzyjności, tendencyjności i liniowości badania AQ lub CpG z wykorzystaniem PyroMark Q24 Validation Oligo.

Walidację przeprowadzić zgodnie z instrukcją dołączoną do produktu. W celu zamówienia PyroMark Q24 Validation Oligo należy skontaktować się z firmą QIAGEN.

6.2 Konserwacja urządzenia PyroMark Q24 MDx

6.2.1 Czyszczenie urządzenia

Jeśli urządzenie zostało zabrudzone przez kurz lub rozlaną ciecz, należy wyczyścić je zgodnie z instrukcją przedstawioną poniżej.

Ważne punkty przed rozpoczęciem:

- Unikać silnych środków czyszczących i chemikaliów oraz przedostawania się wilgoci do wnętrza urządzenia.
- Płyn czyszczący aplikować wyłącznie na szmatkę
- Do czyszczenia ekranu nie używać rozpuszczalników organicznych ani detergentów innych niż etanol.

Wymagane są natępujące rzeczy:

- Etanol (70%)
- Woda o wysokiej czystości (Milli-Q 18.2 MΩ x cm lub jej odpowiednik)
- Czysta, miękka ściereczka, nie pozostawiająca włókien

Procedura

1. Kiedy urządzenie zakończy pracę, przy pomocy strzałek ▲ i ▼ na ekranie w głównym menu wybrać "Shutdown" (Zamykanie) i nacisnąć "OK".
2. Kiedy pojawi się komunikat "It is now safe to turn off the aparat" (Można bezpiecznie wyłączyć urządzenie), wyłączyć aparat. Wyłącznik znajduje się z tyłu urządzenia.
3. Odłączyć urządzenie od prądu (dwie główne wtyczki).
4. Otworzyć pokrywę urządzenia.
5. Przy pomocy niepylącej ściereczki lekko nasączonej 70% etanolem wyczyścić obszar dookoła jednostki dozującej, komorę procesową i blok grzejny.

6. Wyczyścić ekran przecierając go czystą, miękką ściereczką nie zostawiającą włókien, lekko nasączoną wodą. Jeśli powyższy sposób nie pozwala na zadowalające wyczyszczenie ekranu, nasączyć ściereczkę odrobiną etanolu 70%. Nie pozwolić na przedostanie się etanolu do otworów znajdujących się wokół obudowy ekranu.
7. Jeśli to konieczne, wyczyścić obudowę urządzenia używając czystej, niestrzępiącej się ściereczki nasączonej wodą.
8. Po czyszczeniu powierzchnie wytrzeć do sucha czystą, suchą, miękką, niestrzępiącą się ściereczką.
9. Ponownie podłączyć aparat do źródła prądu.

6.2.2 Czyszczenie bloku grzejnego i światłowód

W przypadku rozlania cieczy na blok grzejny wewnątrz urządzenia, należy wyczyścić zarówno blok jak i znajdujące się pod nim światłowody.

Wymagane są następujące rzeczy:

- Bawełniane waciki
- Etanol (70%)
- Czysta, miękka, niestrzępiąca się ściereczka (np. do przecierania obiektywów aparatu fotograficznego)

Procedura

1. Kiedy urządzenie zakończy pracę, przy pomocy strzałek \blacktriangle i \blacktriangledown na ekranie w głównym menu wybrać "Shutdown" (Zamykanie) i nacisnąć "OK".
2. Kiedy pojawi się komunikat "It is now safe to turn off the aparat" (Można bezpiecznie wyłączyć urządzenie), wyłączyć aparat. Wyłącznik znajduje się z tyłu urządzenia.
3. Odłączyć urządzenie od prądu (dwie główne wtyczki).
4. Otworzyć pokrywę urządzenia.
5. Otworzyć ramę trzymającą płytkę.
6. Przy pomocy bawełnianego wacika lekko nasączonego 70% etanolem starannie wyczyścić każdy dołek/światłowód (patrz: zdjęcie)

7. Wyczyścić przestrzeń pomiędzy blokiem grzejnym i blokiem ze światłowodami poprzez ostrożne włożenie tam czystej, miękkiej, niestrzępiącej się ściereczki, lekko nasączonej 70% etanolem (patrz: zdjęcie)
8. Zamknąć ramę trzymającą płytkę i pokrywę urządzenie i podłączyć urządzenie do źródła prądu.




UWAGA



Konserwacja światłowodów

Do czyszczenia przestrzeni pomiędzy blokiem grzejnym a blokiem ze światłowodami wewnątrz urządzenia należy używać chusteczek bezpyłowych. Nie używać papierowych chusteczek.

6.3 Konserwacja próżniowej stacji roboczej urządzenia PyroMark Q24 MDx

<p>UWAGA</p> 	<p>Niebezpieczne substancje chemiczne</p> <p>Roztwór do denaturacji stosowany w stacji roboczej zawiera wodorotlenek sodu, który działa drażniąco na oczy i skórę. Należy zawsze nosić okulary ochronne, rękawice i fartuch laboratoryjny. Osoba odpowiedzialna (np. kierownik laboratorium) musi podjąć niezbędne środki ostrożności w celu zapewnienia, że otoczenie w miejscu pracy jest bezpieczne i że operatorzy urządzenia są odpowiednio przeszkoleni. Nie mogą oni być narażeni na działanie niebezpiecznych poziomów substancji toksycznych, jak określono w obowiązujących Kartach Charakterystyki Substancji Niebezpiecznych (MSDS) lub OSHA*, ACGIH† czy COSHH‡.</p> <p>Więcej informacji znajduje się na stronie www.qiagen.com/support/msds.aspx</p> <p>Wietrzenie i unieszkodliwianie odpadów musi być przeprowadzane zgodnie ze wszystkimi krajowymi, stanowymi i lokalnymi przepisami dot. zdrowia i bezpieczeństwa pracy.</p>
---	---

* OSHA: Administracja Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (Stany Zjednoczone).

† ACGIH: Amerykańska Konferencja Rządowych Higienistów Przemysłowych (Stany Zjednoczone)

‡ COSHH: Kontrola substancji zagrażających zdrowiu (Wielka Brytania).

6.3.1 Czyszczenie próżniowego stanowiska roboczego urządzenia PyroMark Q24 MDx

Jeśli próżniowe stanowisko robocze musi zostać oczyszczone z kurzu lub rozlanych płynów, należy postępować zgodnie z poniższą instrukcją.

Wymagane są następujące rzeczy:

- Rękawiczki bezpudrowe
- Woda o wysokiej jakości (Milli-Q 18,2 MΩ x cm lub jej odpowiednik)
- Łagodny detergent (jeśli to konieczne)
- Czysta, nietrzepiąca się ściereczka

Procedura

1. Upewnić się, że na urządzenie nie działa żadne podciśnienie, tzn. wyłącznik próżni znajduje się w pozycji Off, a pompa próżniowa jest wyłączona.
2. Odłączyć pompę próżniową od źródła zasilania.
3. Wyczyścić stanowisko robocze i sprzęt (za wyjątkiem sond filtrujących) przy pomocy czystej, niestrzępiącej się ściereczki lekko nasączonej wodą lub łagodnym detergentem.
Nie dotykać końcówek sond filtrujących.
4. Wyrzucić stanowisko robocze i narzędzie (za wyjątkiem sond filtrujących) przy pomocy suchej, czystej, niestrzępiącej się ściereczki.
5. Podłączyć pompę próżniową ponownie do źródła prądu.

6.3.2 Testowanie i wymienianie sond filtrujących

Test sprawności sond

Test sprawności sond filtrujących został opisany w Dziale 5.3.1.

Wymiana sond z filtrami

Należy wymieniać każdą z sond osobno. W celu zapewnienia prawidłowego stosunku przepływu przez sondy, wszystkie sondy powinny zostać wymienione po przygotowaniu ok. 100 płytek.

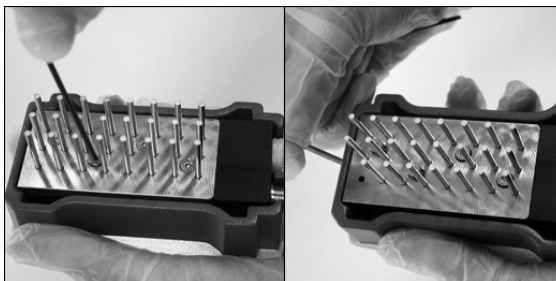
Uwaga: Aby uniknąć zanieczyszczenia sond filtrujących należy używać rękawiczek (bezpudrowych).

Wymagane są następujące rzeczy:

- Rękawiczki bezpudrowe
- 2 mm klucz typu Allen (dołączony do zestawu)
- Woda o wysokim poziomie czystości (Milli-Q 18,2 MΩ x cm lub jej odpowiednik)
- Nowe sondy filtrujące (QIAGEN)

Procedura

1. Upewnić się, że na urządzenie nie działa żadne podciśnienie, tzn. wyłącznik próżni znajduje się w pozycji Off, a pompa próżniowa jest wyłączona.
2. Odłączyć pompę próżniową od źródła zasilania.
3. Usunąć narzędzie z tuby.
4. Rozluźnić 4 wkręty przy pomocy 2 mm klucza typu Allen, dołączonego do zestawu.
5. Wyjąć stare sondy filtrujące.
6. Delikatnie włożyć nowe sondy nie naciskając na końcówki filtrów.
7. Zakręcić 4 wkręty i podłączyć pompę próżniową ponownie do źródła prądu.



6.3.3

Symiana gumowej uszczelki

Jeśli sondy filtrujące są luźne i/lub wypadają, możliwe są dwie przyczyny:

- Wkręty (4) nie zostały dostatecznie mocno dokręcone
- Należy wymienić gumową uszczelkę

Jeśli konieczna jest wymiana uszczelki, potrzebne są do tego następujące rzeczy:

- Rękawiczki bezpydrowe,
- 2 mm klucz typu Allen (dołączony do zestawu)
- Nowa gumowa uszczelka (QIAGEN)

Procedura

1. Upewnić się, że na urządzenie nie działa żadne podciśnienie, tzn. wyłącznik próżni znajduje się w pozycji Off, a pompa próżniowa jest wyłączona.
2. Odłączyć pompę próżniową od źródła zasilania.
3. Usunąć narzędzie z tuby.
4. Rozluźnić 4 wkręty przy pomocy 2 mm klucza typu Allen, dołączonego do zestawu.
5. Delikatnie usunąć sondy filtrujące. Unikać ich zanieczyszczenia.
6. Usunąć metalową płytkę i wymienić gumową uszczelkę.



7. Ponownie złożyć narzędzie i podłączyć pompę próżniową do źródła prądu.
8. Sprawdzić, czy sondy filtrujące działają poprawnie przez przeprowadzenie testu sprawności opisanego w Dziale 5.3.1.

6.3.4 Wymiana przewodu

Jeśli przewód jest uszkodzony lub zdeformowany należy go wymienić.

W czasie usuwania odpadów laboratoryjnych należy przestrzegać narodowych, stanowych i lokalnych przepisów w zakresie zdrowia i bezpieczeństwa.

Wymagane są następujące rzeczy:

- Nowy przewód (QIAGEN)
- Zlewka

Procedura

1. Upewnić się, że na urządzenie nie działa żadne podciśnienie, tzn. wyłącznik próżni znajduje się w pozycji Off, a pompa próżniowa jest wyłączona.
2. Odłączyć pompę próżniową od źródła zasilania.
3. Wyjąć uszkodzony przewód z jednej strony i wyłączyć wszelkie pozostałe w nim płynne odpady do pustej zlewki.
4. Odłączyć drugi koniec przewodu i wyjąć go wraz ze wszelkimi ciekłymi odpadami.
5. Przeciąć nowy przewód próżniowy na trzy części i zamontować. Należy upewnić się, że przewód jest połączony z mocowaniami "Vacuum" (Próżnia) pompy próżniowej.
6. Podłączyć pompę ponownie do źródła prądu.

6.3.5

Wymiana filtra odpadów

Jeśli filtr odpadów jest mokry (np. z powodu przepełnienia pojemnika na odpady), to nie da się uzyskać podciśnienia; w tym przypadku filtr powinien zostać wymieniony.

W czasie usuwania odpadów laboratoryjnych należy przestrzegać narodowych, stanowych i lokalnych przepisów w zakresie zdrowia i bezpieczeństwa.

Potrzebne są następujące rzeczy:

- Nowy filtr odpadów
- Zlewka

Uwaga: Do próżniowej stacji roboczej dołączone są dwa filtry odpadów. Dodatkowe filtry mogą zostać zakupione na www.millipore.com (Millipore Millex-FG50 Filter Unit, nr kat. SLFG05010).

Procedura

1. Upewnić się, że na urządzenie nie działa żadne podciśnienie, tzn. wyłącznik próżni znajduje się w pozycji Off, a pompa próżniowa jest wyłączona.
2. Odłączyć pompę próżniową od źródła zasilania.

Konserwacja

3. Wyjąć przewód z mocowania filtra i wylać wszelkie pozostałe w nim płynne odpady do pustej zlewki.
4. Usunąć filtr.
5. Wcisnąć przewód w mocowanie nowego filtra.
6. Jeśli to konieczne, opróżnić pojemnik na odpady.

Uwaga: Pokrywa może zostać usunięta bez odłączania przewodu.

7. Podłączyć pompę ponownie do źródła prądu.

Strona celowo pozostawiona pustą

7 Rozwiązywanie problemów

Jeżeli chcą Państwo przekazać Serwisom Technicznym firmy QIAGEN informację o błędzie, prosimy o zanotowanie kroków, które do niego doprowadziły i wszystkich informacji pojawiających się w okienkach z komunikatami. Pomoże to serwisantowi QIAGEN w rozwiązaniu problemu.

Podczas kontaktowania się z Serwisami Technicznymi firmy QIAGEN prosimy o przygotowanie następujących informacji:

- Numer seryjny urządzenia, jego typ i wersja
- Data ostatniej przeprowadzonej konserwacji urządzenia
- Kod błędu (jeśli jest)
- Moment, w którym błąd pojawił się po raz pierwszy
- Częstotliwość występowania błędu (tzn. z przerwami lub występujący stale)
- Jeśli to możliwe: zdjęcie błędu

Przed kontaktem z Serwisami Technicznymi firmy QIAGEN prosimy o przeprowadzenie następujących czynności:

1. Aby ocenić, czy system działał poprawnie w czasie przeprowadzania badania należy sprawdzić dziennik pracy urządzenia (w raporcie "Run Information").
2. Sprawdzić dział poświęcony rozwiązywaniu problemów (poniżej).
3. Zweryfikować poprawność instalacji i działania systemu przy pomocy PyroMark Control Oligo.

Sprawdzanie dziennika pracy urządzenia

W celu sprawdzenia, czy system działał poprawnie w czasie przeprowadzania badania, zaleca się sprawdzenie dziennika pracy urządzenia.

1. Otworzyć plik reakcji.
2. Wybrać "Run Information" (Informacje nt. reakcji) z menu "Tools" (Narzędzia) lub nacisnąć plik prawym przyciskiem w przeglądarce i wybrać "Run Information" (Informacje nt. reakcji) z menu kontekstowego. Otworzy się raport z przeprowadzonego badania.

3. Sprawdzić dziennik pracy (na końcu reportu) celem wykrycia ewentualnych problemów mających miejsce podczas pracy urządzenia.
4. Jeśli podczas przeprowadzania badania zauważalne są kilkukrotne lub długotrwałe zmiany zaprogramowanej temperatury bloku lub zmiany wartości nacisku i/lub prędkości miksera, a także jeśli takie zmiany widoczne są w powtórzonych badaniach, to należy skontaktować się z Serwisami Technicznymi QIAGEN. Jeśli zajdzie potrzeba wysłania pliku z danymi na temat środowiska:
 - Wybrać “Export Environment Data” (Eksportuj dane nt. środowiska) z menu “Tools” (Narzędzia)
 - Wybrać folder docelowy do zapisania pliku z listy rozwijanej “Save in” (Zapisz w)
 - Wprowadzić nazwę w okienku tekstowym “File name” (Nazwa pliku) i kliknąć “Save” (Zapisz)

7.1 Błędy związane z analizą

Komentarze i sugestie

- | | |
|---|---|
| a) Niepowodzenie reakcji PCR z powodu niskiej jakości DNA | Sprawdzić próbkę do PCR używając żelu agarozowego w celu potwierdzenia, że zawiera ona jedno silne, specyficzne wiązanie. Jeśli nie – przeprowadzić ponownie PCR z użyciem DNA o wysokiej jakości.

Zestaw PyroMark PCR jest rekomendowany do przeprowadzania wysoce specyficznej amplifikacji DNA pokrytego wodorosiarczanem lub genomicznego DNA pochodzącego z różnych źródeł. |
| b) Słabo zoptymalizowana reakcja PCR | Sprawdzić próbki do PCR używając żelu agarozowego w celu potwierdzenia, że zawiera ona jedno silne specyficzne wiązanie. Jeśli nie, reoptymalizować PCR. |

Komentarze i sugestie

- c) Biotynylacja została pominięta lub nie została dodana do odpowiedniego startera PCR Sprawdzić projekt badania; patrz: Załącznik B.
- d) Niska jakość biotynylacji Korzystać z rekomendowanych dostawców starterów. Upewnić się, że biotynylowany starter został oczyszczony metodą HPLC lub podobną.
- e) Niedostateczna ilość wzornika do unieruchomienia kulek Sepharose Postępować zgodnie z zaleceniami dot. ilości wzornika; patrz: Załącznik B.
- f) Nadmiar produktu PCR zagraża substratowi, co prowadzi do ominięcia punktów szczytowych na końcu sekwencji Użyć mniej produktu reakcji PCR.
- g) Jedna lub kilka komór w kartridżu z odczynnikiem nie została poprawnie napełniona Należy upewnić się, że dodano odpowiednią, wystarczającą ilość odczynników (otworzyć ustawienia protokołu i wybrać "Pre Run Information" (Informacje Przed Uruchomieniem) z menu "Tools" (Narzędzia).

Postępować zgodnie z instrukcjami zamieszczonymi w podręcznikach dostarczonych wraz z odpowiednimi produktami.

Komentarze i sugestie

- h) Jedna z igieł w kartridżu z odczynnikami jest zablokowana lub zniszczona (zauważalne jako brakujący sygnał presekwencyjny i/lub brakujące punkty szczytowe na pyrogramie)
- W przypadku tępych igieł należy usunąć kartridż z odczynnikami. Upewnić się, że przestrzegane są wszystkie narodowe, stanowe i lokalne przepisy dotyczące ochrony środowiska w zakresie usuwania odpadów laboratoryjnych.
- i) Niepoprawnie wymieszane lub przechowywane odczynniki
- Upewnić się, że postępują Państwo zgodnie z instrukcjami zawartymi w podręczniku użytkownika dołączonym do odczynników PyroMark Gold Q24. Aby sprawdzić, czy punkty szczytowe w tle pochodzą od nukleotydów, należy w protokole uwzględnić pustą studzienkę (wypełnioną wyłącznie buforem do annealingu).
- j) Słaby sygnał z powodu zabrudzenia światłowodów
- Wyczyścić blok grzejny i światłowody. Patrz: Dział 6.2.2.
- k) Niepoprawna sekwencja do analizy
- Poprawić analizowaną sekwencję i, jeśli to konieczne, ponownie przeprowadzić analizę próbki.
- l) Punkty szczytowe w tle na pyrogramie
- Podczas pierwszego badania postępować zgodnie z zaleceniami przedstawionymi w Załączniku B.
Przeprojektować badanie.

Komentarze i sugestie

- | | |
|---|---|
| m) Niespotykanie wysokie zużycie substratu (zauważalne jako wysoki sygnał presekwencyjny) | Przygotować próbki zgodnie z instrukcjami z Działu 5.3.

Zmienić bufor; nie używać buforów innych niż te dostarczone przez QIAGEN.

Korzystając z opcji przybliżenia (zaznaczyć fragment pyrogramu lewym przyciskiem myszy) sprawdzić, czy został wygenerowany jakikolwiek punkt szczytowy. |
| n) Przesłuch (światło z jednej studzienki pojawia się w sąsiedniej) | Unikać umieszczania testów o wysokich sygnałach blisko tych o niskich sygnałach. |
| o) Błąd dyspensacji | Wymienić kartridż z odczytnikami. Jeśli problem nie został rozwiązany, skontaktować się z Serwisami Technicznymi QIAGEN. |
| p) Nieznane SNP w próbce | Umieścić SNP w sekwencji celem analizy i zregenerowania kolejności dyspensacji. Ponownie przeanalizować próbkę z zastosowaniem nowej kolejności dyspensacji. |
| q) dUTP użyty w reakcji PCR | Zamienić dUTP na dTTP ze względu na to, że nukleotyd A używany w reakcji pirosekwencjonowania łączy się mniej rygorystycznie z dUTP. |
| r) Przesunięcie plus | Zmienić kolejność dyspensacji. |
| s) Przesunięcie minus | Upewnić się, że po homopolimerach następuje dodatkowa dyspensacja. |

7.2 Analiza błędów oprogramowania

W przypadku wystąpienia błędów związanych z oprogramowaniem do analizy, prosimy o zapoznanie się z

działem “Rozwiązywanie Problemów” instrukcji użytkownika
PyroMark Q24 MDx Software User Guide.

7.3 Błędy związane z urządzeniem

Komentarze i sugestie

Komunikat błędu

- a) Too many unsaved runs in the aparat. Please go to folder “Unsaved Runs” and save them to USB memory
- Treść komunikatu:
Zbyt wiele niezapisanych analiz. Proszę otworzyć folder “Unsaved Runs” (Niezapisane analizy) i zapisać je na nośniku pamięci.
Przenieść niezapisane analizy na pamięć USB; patrz: Dział 5.1.2.
- b) The required value was not reached. The run will be stopped
- Treść komunikatu:
Nie uzyskano wymaganej wartości. Analiza zostanie zatrzymana.
Ponownie włączyć analizę. Jeśli temperatura pomieszczenia jest wysoka i utrzymuje się problem z wysoką temperaturą:
- Upewnić się, że urządzenie chłodzące jest podłączone do prądu (z tyłu świeci się dioda wskazująca pobór prądu). Jeśli nie, sprawdzić połączenia.
 - Sprawdzić poziom płynu chłodzącego.
- c) “Run name” is invalid
- Treść komunikatu:
Nieprawidłowa nazwa protokołu.
Upewnić się, że plik protokołu został utworzony przez PyroMark Q24 MDx Software.

Komentarze i sugestie

- d) Could not copy "file" to USB memory Treść komunikatu:
Nie można skopiować "pliku" do pamięci USB.
Wymienić pamięć przenośną. Zalecamy korzystanie z dołączonych przez QIAGEN pamięci USB.
- e) Failed to connect to the hardware/the connection to the hardware is lost, please restart the aparat Treść komunikatu:
Nie udało się połączyć z urządzeniem/utracono połączenie z urządzeniem, proszę ponownie uruchomić aparat.
Ponownie uruchomić urządzenie. Jeśli to nie pomoże, skontaktować się z Serwisami Technicznymi QIAGEN.
- f) No valid upgrade folders/files found on USB memory Treść komunikatu:
Na pamięci USB nie znaleziono odpowiednich plików/folderów do przeprowadzenia aktualizacji.
Upewnić się, że pliki do aktualizacji są umieszczone w folderze „Upgrade” (Aktualizacja) w katalogu głównym na pamięci USB.

Uwaga: W przypadku wystąpienia innych komunikatów należy skontaktować się z Serwisami Technicznymi QIAGEN.

Inne problemy

- a) Urządzenie wydaje dziwny dźwięk w czasie uruchamiania Sprawdzić, czy kartridż z odczytnikami został poprawnie zainstalowany.
- b) Brak połączenia z pamięcią USB Używana pamięć USB jest uszkodzona lub niekompatybilna z systemem. Zaleca się korzystanie z dołączonych przez QIAGEN pamięci USB.
- c) Nie można włożyć pamięci USB Uszkodzone gniazdo USB; skontaktować się z Serwisami Technicznymi QIAGEN.

7.4 Błędy kolektora próżniowego

Komentarze i sugestie

- | | |
|---|---|
| a) Nie uzyskano podciśnienia | <p>Wyłączyć pompę próżniową i otworzyć pokrywę pojemnika z odpadami w celu uwolnienia ciśnienia. Zamknąć pokrywę i ponownie załączyć pompę. Opróżnić pojemnik na odpady, jeśli jest pełen.</p> <p>Upewnić się, że przewód jest podłączony poprawnie i nie ma żadnych wycieków.</p> <p>Filtr odpadów może być mokry i wymagać wymiany; patrz: Dział 6.3.5.</p> |
| b) Utrata podciśnienia w czasie przygotowywania próbki | <p>Upewnić się, że przewód jest podłączony poprawnie i nie ma żadnych wycieków.</p> <p>Filtr odpadów może być mokry i wymagać wymiany; patrz: Dział 6.3.5.</p> |
| c) Sondy filtrujące nie działają prawidłowo | <p>Upewnić się, że sondy filtrujące działają prawidłowo; patrz: Dział 6.3.2.</p> |
| d) Pozostałości cieczy w niektórych studzienkach w unieruchomionej płytce | <p>Wymienić odpowiadające im sondy filtrujące; patrz: Dział 6.3.2.</p> |
| e) Białe resztki (kulki Sepharose) w unieruchomionej płytce | <p>Jeśli od wzburzania płytki (lub paska) minęła więcej niż 1 min, to należy ją ponownie wzburzać przez minutę przed wyłapaniem kulek.</p> |

7.5 Weryfikacja poprawności instalacji i obsługi

PyroMark Control Oligo sprzedawane razem z PyroMark Q24 MDx jest wymagane do zweryfikowania poprawności instalacji i działania systemu. PyroMark Control Oligo składa się z wahających się zasad (mierzonych jako %C), pojedynczych zasad oraz homopolimerów dwóch i trzech zasad. Informacje na temat tego, jak używać PyroMark Control Oligo można znaleźć w instrukcji *PyroMark Q24 Validation Oligo* dołączonej do produktu.

Strona celowo pozostawiona pustą

8 Słownik

Termin	Opis
AQ	Tryb analizy używany do badania ilościowego różnych alleli.
Biotine (Biotyna)	Molekuła, która tworzy silne wiązania ze streptawidyną. Primery reakcji PCR mogą być biotynylowane, co pozwoli na utworzenie wiązania pomiędzy końcowym produktem reakcji PCR a kulkami pokrytymi streptawidyną.
Bisulfite (Wodorosiarczan)	HSO_3^- określane jako wodorosiarczyny (lub siarczyny wodoru). W reakcji wodorosiarczanu DNA jest poddawane działaniu wodorosiarczanu sodu celem przekształcenia resztek cytozyny w uracyl w warunkach, w których metylowana cytozyna pozostaje niereaktywna.
Kontrola obróbki bisiarczynem	Badania oparte na pirosekwencjonowaniu mogą zawierać kontrolę wewnętrzną służącą do oceny efektywności obróbki bisiarczynem. Zasady C, po których w sekwencji nie pojawia się G zwykle nie są metylowane i z tego powodu powinny być w pełni przekształcone do T po obróbce bisiarczynem i reakcji PCR. Za skuteczną obróbkę bisiarczynem uważa się taką, po której wszystkie wzorniki DNA wykazują w tych miejscach wyłącznie T a nie C. W przypadku odwrotnego badania, wszystkie wzorniki powinny wykazywać w tych miejscach A zamiast G.
CpG	Tryb analizy wykorzystywany do analizy metylacji CpG.
Cyclic dispensation order Polecenie cyklicznego rozdzielania	Powtarzające się polecenie rozdzielania przy rozdzielaniu nukleotydów. Zwykle stosowane w technologii pirosekwencjonowania do dzielenia nieznanymi sekwencji DNA. Na przykład: pozwala na użycie i powtórzenie dowolną, wymaganą ilość razy „CTGA” lub „TCGA”.

Termin	Opis
Termin	Opis
AQ	Tryb analizy używany do badania ilościowego różnych alleli.
Biotine (Biotyna)	Molekuła, która tworzy silne wiązania ze streptawidyną. Startery reakcji PCR mogą być biotynylowane, co pozwoli na utworzenie wiązania pomiędzy końcowym produktem reakcji PCR a kulkami pokrytymi streptawidyną.
Bisulfite (Wodorosiarczan)	HSO_3^- określany jako wodorosiarczyn (lub siarczyn wodowy). W reakcji wodorosiarczanu DNA jest poddawane działaniu wodorosiarczanu sodu celem przekształcenia resztek cytozyny w uracyl w warunkach, w których metylowana cytozyna pozostaje niereaktywna.
Bisulfite treatment control (Kontrola obróbki bisiarczynem)	Badania oparte na pirosekwencjonowaniu mogą zawierać kontrolę wewnętrzną służącą do oceny efektywności obróbki bisiarczynem. Zasady C, po których w sekwencji nie pojawia się G, zwykle nie są metylowane i z tego powodu powinny być w pełni przekształcone do T po obróbce bisiarczynem i reakcji PCR. Za efektywną obróbkę bisiarczynem uważa się taką, po której wszystkie wzorniki DNA wykazują w tych miejscach wyłącznie T, a nie C. W przypadku odwrotnego badania, wszystkie wzorniki powinny wykazywać w tych miejscach A zamiast G.
CpG	Tryb analizy wykorzystywany do analizy metylacji CpG.
Cyclic dispensation order (Cykliczny układ zasad)	Powtarzalny układ nukleotydów służący do ich oznaczania. Zwykle stosowany w technologii pirosekwencjonowania do dzielenia niezależnych sekwencji DNA. Na przykład: pozwala na użycie i powtórzenie niezbędnej ilości razy sekwencji „CTGA” lub „TCGA”.

Termin	Opis
Directed dispensation order (Bezpośredni układ zasad)	Nie powtarzający się układ nukleotydów, który jest zgodny ze znaną sekwencją. Może zostać wykorzystany w technologii pirosekwencjonowania pod warunkiem, że użytkownik zna sekwencję, która ma być analizowana. Na przykład: sekwencja "TCCAGAA" może być analizowana z dopuszczeniem kolejności "TCAGA".
Dispensation order (Kolejność rozdzielania)	Definiuje nukleotydy i ich kolejność, w której powinny być rozdzielane w procesie pirosekwencjonowania.
Drop off (Spadek)	Stały spadek w punkcie szczytowym, zwykle widoczny na pyrogramie.
Enzyme (Enzym)	Białko (lub RNA) działające jako katalizator, przyspieszające reakcję biochemiczną bez jej przekształcenia. W technologii pirosekwencjonowania w reakcji sekwencjonowania wykorzystywana jest mieszanina polimerazy Klenowa, sulfurylasy i apyrazy.
Histogram	Teoretyczne przedstawienie wzoru spodziewanego szczytu pirosekwencjonowania.
Homopolymer (Homopolimer)	Łańcuch identycznych zasad DNA. W technologii pirosekwencjonowania przyjmuje się, że homopolimerem jest łańcuch więcej niż dwóch identycznych zasad.
InDels	Zmiany i/lub skreślenia.
Aparat methods (Metody z użyciem aparatu)	Metoda opisująca fizyczne ustawienia aparatu, takie jak prędkość miksera, temperatura bloku czy ustawienia czasu pulsowania.

Termin	Opis
Pyrogram	Wykres przedstawiający reakcje sekwencjonowania przeprowadzone z wykorzystaniem technologii pirosekwencjonowania. Uwzględniane nukleotydy są pokazane jako punkty szczytowe na pyrogramie.
Quality control window (Okno kontroli jakości)	Przedstawia podsumowanie jakości pod koniec określonej liczby zasad w sekwencjonowaniu opartym na znanych zasadach. Jedno z ustawień w trybie analizy SQA.
Reference peak (Punkt odniesienia)	Niezmiennie punkty szczytowe (tj. punkty szczytowe, które nie są częścią zmiennej pozycji) określa się jako "punkty odniesienia". Są one wykorzystywane w analizie zarówno jako punkty odniesienia w czasie obliczania poziomu wysokości danego punktu, a także jako kontrola wewnętrzna podczas oceniania jakości.
RLU	Względne Jednostki Światła (Relative Light Unit) – jednostka używana w pirosekwencjonowaniu do określania wysokości punktów szczytowych na pyrogramie.
Sepharose beads Kulki Sepharose	Kulki pokryte streptawidyną powinny być wykorzystywane do przygotowania biotynylowanych produktów reakcji PCR.
SQA	Tryb analizy używany do przypisywania zasad nieznanych sekwencji do wykresu.
Sequence to analyze (Sekwencja do analizy)	Krótką część sekwencji DNA (w Państwa próbce), zaczynająca się tuż za starterem sekwencjonowania, która zawiera jedną lub kilka zmiennych pozycji, które mają zostać przeanalizowane z wykorzystaniem platformy aparatu do pirosekwencjonowania.
Sequencing starter (Starter sekwencjonowania)	Starter sekwencjonowania włączany do wzornika podczas przygotowania próbki. Koniec 3' startera sekwencjonującego służy jako punkt początkowy do rozszerzania przez polimerazę DNA.

Termin	Opis
Shift (Przesunięcie)	<p>Przesunięcie Plus: Niewielka część sekwencji wzornika, która zawiera więcej niż jeden typ nukleotydu na raz (jeśli, na przykład, znajdują się tam resztki pozostawione po wcześniejszym dozowaniu) i która będzie sekwencjonowana przed resztą sekwencji wzornika.</p> <p>Przesunięcie Minus: Niewielka ilość sekwencji wzornika, która nie obejmuje nukleotydu będzie sekwencjonowana po pozostałej części wzornika.</p>
Signal-to-noise ratio (Stosunek sygnału do szumu)	<p>Stosunek wysokości sygnału i wysokości szumu. Wskaźnik czystości danych. Im wyższy stosunek, tym lepsze dane.</p>
Single nucleotide polymorphism (SNP) (pojedynczy polimorfizm nukleotydu)	<p>SNP dotyczą zamiany jednej zasady DNA w inną. SNP i mutacje punktowe są identyczne pod względem struktury, różnią się jedynie częstotliwością. Różnice, które występują u 1 lub mniej procenta populacji są uznawane za mutacje punktowe, podczas gdy te występujące u więcej niż 1% populacji – za SNP.</p>
Streptavidin (Streptawidyna)	<p>Białko, które wiąże się silnie z biotyną.</p>
Substrate (Substrat)	<p>Molekuła poddana działaniu enzymu. Technologia pirosekwencjonowania wykorzystuje mieszaninę substratów fosfosiarczanu 5' adenozyne (ASP) i lucyferinu do reakcji sekwencjonowania.</p>
Variable position (Pozycja zmienna)	<p>Obszar w sekwencji, który różni się jedną lub większą ilością zmiennych baz. W oprogramowaniu PyroMark Q24 MDx, zmienne pozycje są wyświetlone na szaroniebieskim tle na histografie i pyrogramie.</p>

Strona celowo pozostawiona pustą

Załącznik A

Dane techniczne

QIAGEN zastrzega sobie prawo do wprowadzenia zmian w specyfikacji w dowolnym momencie.

Warunki środowiskowe

Warunki pracy urządzenia PyroMark Q24 MDx

Zasilanie	100–240 VAC, 50–60 Hz
Zużycie energii	Maximum 160 VA
Rating urządzenia	24 V DC, 40 W
Rating chłodzenia	12 V DC, 60 W
Kategoria przepięciowa	II
Temperatura powietrza	15–32°C (59–90°F)
Wilgotność względna	20–90% (bez kondensacji)
Wysokość	Do 2000 m (6500 ft.)
Miejsce pracy	Do użytku wewnątrz pomieszczeń Pozycja z dala od przeciągów, nie za blisko okien. Urządzenie należy przechowywać z dale od bezpośredniego padania promieni słonecznych.
Poziom zanieczyszczenia	2

Załącznik

Klasa warunków środowiskowych 3K2 (IEC 60721-3-3)

Warunki transportu

Temperatura powietrza -25°C to 60°C (-13°F to 140°F)

Wilgotność względna Max. 75% (bez kondensacji)

Warunki przechowywania

Temperatura powietrza 10°C to 40°C (50°F to 104°F)

Wilgotność względna Max. 75% (bez kondensacji)

Dane mechaniczne i cechy osprzętu

Wymiary(zamknięte) Szerokość: 390 mm (15,35 cala)
Wysokość: 420 mm (16,54 cala)
Głębokość: 525 mm (20,67 cala)

Wolna przestrzeń Szerokość: 700 mm (27,56 cala)
Wysokość: 700 mm (27,56 cala)
Głębokość: 600 mm (23,62 cala)

Masa 28 kg (61,74 lb)

Pojemność Do 24 próbek na protokół

Odporność chemiczna pH 4 do pH 9, zwykłe detergenty, 0,5 M wodorotlenek sodu, etanol 70%

Warunki pracy: kolektor próżniowy PyroMark Q24 MDx

Zasilanie	100 V AC, 50/60 Hz lub 115 V AC, 60 Hz lub 230 V AC, 50 Hz Zużycie energii: Max. 25 VA
Kategoria przebieciowa	II
Temperatura powietrza	15–32°C (59–90°F)
Wilgotność względna	20–90%
Wysokość	Do 2000 m (6500 ft)
Miejsce pracy	Używać wyłącznie wewnątrz pomieszczeń. Zwykłe warunki laboratoryjne; stosować odpowiednią wentylację.
Poziom zanieczyszczenia	2
Klasa warunków środowiskowych	3K2 (IEC 60721-3-3)

Warunki transportu

Temperatura powietrza	–25°C to 60°C (–13°F to 140°F)
Wilgotność względna	Max. 75% (bez kondensacji)

Warunki przechowywania

Temperatura powietrza 10°C do 40°C (50°F do 104°F)

Wilgotność względna Max. 75% (bez kondensacji)

Dane mechaniczne i cechy osprzętu

Wymiary (blat roboczy) Szerokość: 295 mm (11,61 cala)
Wysokość: 68 mm (2,68 cala)
Głębokość: 353 mm (13,90 cala)

Wolna przestrzeń Szerokość: 350 mm (13,78 cala) (lub 700 mm [27,56 cala])
Wysokość: 400 mm (15,74 cala)
Głębokość: 700 mm (27,56 cala) (lub 350 mm [13,78])

Masa 11 kg (24,26 lb) (wliczając pełne korytka i wypełniony pojemnik na odpady)

Pojemność Do 24 próbek na płytkę

Odporność chemiczna pH 4 do pH 9, zwykle detergenty, 0,5 M wodorotlenek sodu, etanol 70%

Oprogramowanie PyroMark Q24 MDx

System operacyjny Microsoft Windows 7, angielska wersja językowa

Procesor Intel Pentium IV, 3 GHz (lub wyższy)

RAM 1 GB

Wolna przestrzeń na dysku twardym 100 MB

Karta graficzna Obsługująca rozdzielczość monitora

Monitor 1280 x 1024 pixeli

Urządzenie wkazujące	Mysz lub podobne
Złącza	Port USB i CD-ROM

Odpady Elektryczne i Elektroniczne (WEEE)

Ten dział zawiera informację dotyczącą usuwania przez użytkowników odpadów elektrycznych i elektronicznych.

Symbol przekreślonego kontenera na odpady (poniżej) oznacza, że produkt nim oznaczony nie może być wyrzucony razem z innymi odpadami; należy go dostarczyć do odpowiedniego miejsca przetwarzania odpadów lub punktu zbiórki odpadów do recyklingu, zgodnie z lokalnymi przepisami i ustaleniami.

Segregowanie odpadów elektronicznych oraz ich przetwarzanie pozwala na ochronę surowców naturalnych; sprawia to również, że produkt jest przetwarzany w sposób, który chroni ludzkie zdrowie i środowisko.



Firma QIAGEN oferuje usługę recyklingu na życzenie klienta za dodatkową opłatą. W Unii Europejskiej, zgodnie z wymaganiami WEEE dotyczącymi przetwarzania odpadów, w przypadku wymiany urządzenia na inne, dostarczane przez

firmę QIAGEN, dystrybutor zapewnia nieodpłatne odebranie zużytego sprzętu z oznaczeniem WEEE.

W celu przetworzenia sprzętu elektronicznego prosimy o kontakt z lokalnym biurem sprzedaży firmy QIAGEN, gdzie można otrzymać stosowny, wymagany formularz zwrotu. Po przesłaniu formularza, QIAGEN skontaktuje się z Państwem w celu otrzymania dodatkowych informacji pozwalających na ustalenie daty odbioru odpadów lub przedstawieniu zindywidualizowanej oferty.

Deklaracja FCC

"United States Federal Communications Commission" (USFCC) (w 47 CRF 15. 105) stwierdziła, że użytkownicy niniejszego produktu muszą zostać poinformowani o następujących faktach i okolicznościach.

'To urządzenie jest zgodne z częścią 15 przepisów FCC:

Jego funkcjonowanie uwzględnia dwa następujące warunki: (1) Urządzenie nie może wytwarzać szkodliwych zakłóceń i (2) musi odbierać zakłócenia zewnętrzne, w tym zakłócenia mogące spowodować niepożądane funkcjonowanie."

"Niniejsze urządzenie cyfrowe klasy B spełnia wymagania kanadyjskiej normy ICES-0003."

Jeśli nie zaznaczono inaczej, poniższe oświadczenia mają zastosowanie do ujętych w niniejszej instrukcji. Oświadczenia dotyczące innych produktów pojawiają się w towarzyszących im dokumentach.

Uwaga: Niniejsze urządzenie zostało przetestowane i zakwalifikowane jako zgodne z ograniczeniami dla urządzeń cyfrowych klasy B, zgodnie z częścią 15 wytycznych FCC a także jako spełniające wymagania norm Canadian Interference-Causing Equipment Standard ICES-003 dla sprzętów cyfrowych. Ograniczenia te zostały ustalone w celu zapewnienia odpowiedniej ochrony przed szkodliwymi zakłóceniami w instalacjach budynków mieszkalnych. Urządzenie to generuje, wykorzystuje i może wypromieniować energię o częstotliwości radiowej i jeśli nie zostało zainstalowane lub nie jest użytkowane zgodnie z instrukcją, może powodować szkodliwe zakłócenia w

komunikacji radiowej. Nie można jednak zagwarantować, że takie zakłócenia nie wystąpią w przypadku danej instalacji. Jeśli urządzenie powoduje szkodliwe zakłócenia w odbiorze radiowym lub telewizyjnym, których źródło można sprawdzić poprzez wyłączenie i włączenie urządzenia, zachęca się do zastosowania jednej z poniższych wskazówek celem zminimalizowania zakłóceń:

- Obrócić lub zmienić miejsce anteny.
- Zwiększyć odstęp pomiędzy sprzętem a odbiornikiem.
- Sprzęt podłączyć do gniazdka innego obwodu niż ten, do którego podłączony jest odbiornik.
- Zasięgnąć pomocy sprzedawcy lub doświadczonego technika radiowego/telewizyjnego.

QIAGEN GmbH Germany nie jest odpowiedzialny za żadne zakłócenia radiowo-telewizyjne spowodowane przez nieautoryzowane zmiany dokonywane w sprzęcie, a także zamianę lub podłączanie przewodów innych, niż te określone przez QIAGEN GmbH, Germany. Naprawa zakłóceń spowodowanych przez w/w działania użytkownika jest jego całkowitą odpowiedzialnością.

Deklaracja zgodności z CE

Nazwa i adres legalnie działającego producenta

QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden
Germany

Aktualna deklaracja zgodności jest dostępna na życzenie w Serwisach Technicznych QIAGEN.

Załącznik B

Projekt testu i walidacja

Projekt badania

Badania oparte na pirosekwencjonowaniu można projektować przy pomocy najnowszej wersji oprogramowania PyroMark Assay Design Software (ADSW). Program ten automatycznie generuje zestaw starterów zarówno do reakcji PCR, jak i sekwencjonowania. Każdy zestaw starterów posiada wynik jakości oparty na kilku parametrach typowych dla analizy z wykorzystaniem pirosekwencjonowania. Należy upewnić się, że w PyroMark ADSW używacie Państwo poprawnego typu badania. W przypadku pirosekwencjonowania zaleca się korzystanie z badań z oznaczeniem IVD firmy QIAGEN, które posiadają wszystkie niezbędne, zoptymalizowane startery.

PCR

Do amplifikacji PCR zaleca się użycie zestawu PyroMark PCR (QIAGEN), który został zoptymalizowany specjalnie do analiz z wykorzystaniem pirosekwencjonowania i umożliwia wysoce precyzyjne i niezależne amplifikacje wzornika DNA w różnych zastosowaniach pirosekwencjonowania, takich jak wykrywanie mutacji, analizy SNP, analizy metylacji czy identyfikowanie zasad. Wygodny format mastermiksów pozwala na określoną amplifikację różnych materiałów wyjściowych (takich jak genomowe DNA różnych gatunków czy DNA pokryte wodorosiarczanem) przy zastosowaniu tylko jednego protokołu.

Startery PCR

Jeden z starterów musi być oznaczony biotyną, by umożliwić unieruchomienie kulek pokrytych streptoawidyną (Streptavidin Sepharose High Performance; GE Healthcare) podczas przygotowywania wzornika jednoniciowego DNA. Kierunek badania może mieć wartość: do przodu lub do tyłu. W przypadku projektowania starterów przy pomocy PyroMark

ADSW, starter który powinien zostać biotynylowany zostanie wskazany.

Biotynylowany starter powinien być oczyszczony przy pomocy HPLC lub odpowiadającej mu procedury ze względu na to, że wolna biotyna będzie rywalizować z biotynylowanym produktem PCR o wiązania z kulkami typu Sepharose pokrytymi streptoawidyną.

Długość amplikonu

Optymalna długość aplikonu do pirosekwencjonowania wynosi pomiędzy 80 a 200 bp, chociaż produkty o długości do 500 bp również mogą się sprawdzić. Amplikony do badania CpG powinny być krótsze niż 200 bp.

Starter sekwencjonujący

Projektowanie startera sekwencjonującego przy pomocy PyroMark ADSW. Podczas projektowania badania InDel zaleca się, żeby starter sekwencjonujący był ulokowany kilka zasad przed pozycją zmienną. W przypadku pirosekwencjonowania zaleca się również korzystanie z badań z oznaczeniem IVD firmy QIAGEN, które posiadają wszystkie niezbędne, zoptymalizowane startery.

Ustawienia PCR

Reakcje PCR o wartości 25 µl nastawia się przy pomocy zestawu PyroMark PCR. Należy upewnić się, że postępują państwo zgodnie ze wskazówkami zawartymi w instrukcji *PyroMark PCR Handbook*.

Należy przeprowadzić reakcję PCR w optymalnej temperaturze annealingu dla 45 cykli. Użycie mniejszej liczby cykli może skutkować niedostatecznym uzyskiem i powodować problem w tle reakcji pirosekwencjonowania z powodu nadmiaru niewykorzystanego biotynylowanego startera.

Produkt reakcji PCR powinien dać jedno mocne wiązanie z minimalnym nadmiarem starterów w czasie analizy na żelu agarozowym.

Wzornik wyjściowy

Wpływ na uzysk i jakość produktu reakcji PCR ma zarówno ilość, jak i jakość wzornika początkowego kwasu nukleinowego. Jest to szczególnie istotne w przypadku amplifikacji długich fragmentów DNA, które nie zostały podzielone przez działanie wodorosiarczynu lub tych, które zostały pobrane z materiału pokrytego parafiną.

Jakość wzornika wyjściowego

Ze względu na to, że PCR składa się z wielokrotnych rund reakcji enzymatycznych, jest ono bardziej czułe na zanieczyszczenia takie jak białka, fenol/chloroform, sole, etanol, EDTA i inne rozpuszczalniki chemiczne, niż jednoetapowe procesy katalizowane enzymami. Firma QIAGEN oferuje szeroki wachlarz systemów obróbki kwasów nukleinowych, które zapewniają najwyższą jakość wzornika do reakcji PCR. Wśród tych systemów można wymienić system QIAprep® do szybkiego oczyszczania osocza, systemy QIAamp® lub DNeasy® do szybkiego oczyszczania genomowego DNA i wirusowych kwasów nukleinowych, a także system RNeasy® do przygotowania RNA z różnych źródeł. Więcej informacji na temat w/w produktów można znaleźć w Działach Obsługi Technicznej (patrz: tylna okładka) lub na stronie www.qiagen.com.

Jakość wzornika wyjściowego w czasie przeprowadzania badania CpG

Kluczowymi parametrami w przypadku przeprowadzania skutecznej reakcji PCR z wykorzystaniem wzornika DNA uprzednio poddanego działaniu wodorosiarczynu są całkowite przekształcenie wodorosiarczynu i fragmenty DNA o długości odpowiedniej do PCR. Zestaw EpiTect® Bisulfite zapewnia szybką i rzetelną procedurę efektywnego przekształcania wodorosiarczynu i unikalny bufor chroniący DNA, który zapobiega dzieleniu DNA podczas reakcji przekształcania wodorosiarczynu. Więcej informacji nt. produktów EpiTect można znaleźć w jednym z naszych Działów Obsługi Technicznej (patrz: tylna okładka lub strona www.qiagen.com).

Ilość wzornika wyjściowego

Efektywność annealingu startera do wzornika jest istotnym czynnikiem reakcji PCR. Przez wzgląd na termodynamiczny charakter reakcji, stosunek startera do wzornika ma silny wpływ na specyfikę i efektywność PCR i powinien zostać zoptymalizowany empirycznie. Jeśli użyto zbyt małej ilości wzornika, startery mogą nie być w stanie odnaleźć swoich sekwencji komplementarnych. Zbyt wiele wzornika może prowadzić do wzrostu ilości przypadków niewłaściwego przyłączania starterów.

Optymalizacja PCR

W większości przypadków zestaw PyroMark PCR pozwala na uzyskanie satysfakcjonujących wyników. Nie mniej jednak w przypadku, gdy potrzeba wyższego stężenia Mg^{2+} , zaleca się użycie 25 mM $MgCl_2$ dołączonego do zestawu.

W przypadku korzystania z PyroMark ADSW 2.0 zalecana temperatura annealingu to odpowiednio 60°C i 56°C dla genomowego DNA i DNA poddanego działaniu wodorosiarczanu.

Dodanie Q-Solution® (dołączonej do zestawu PyroMark PCR) może polepszyć uzysk i swoistość reakcji PCR w przypadku trudnych wzorników, które np. posiadają wysoki stopień wiązań drugorzędowych lub wzorników bogatych w GC.

W przypadkach wszystkich testów optymalizujących PCR, należy przeanalizować 5 μ l z 25 μ l PCR na żelu agarozowym i celować w jedno mocne specyficzne wiązanie z minimalnym nadmiarem starterów.

W instrukcji *PyroMark PCR Handbook* znajdziecie Państwo więcej informacji nt. rozwiązywania problemów.

Równa amplifikacja obydwu alleli w testach AQ i CpG

Rzetelność wyników w badaniach ilościowych zależy od równej amplifikacji obydwu alleli i dlatego też należy to wnikliwie sprawdzić.

W celu zapewnienia równej amplifikacji w badaniach CpG można wymieszać niemetylowane DNA z coraz większymi proporcjami całkowicie metylowanego DNA. Zaleca się stosowanie EpiTect Control DNA, która zawiera całkowicie metylowane DNA po obróbce wodorosiarczanem, jak również niemetylowane DNA, w gotowych roztworach. Analiza regresji częstotliwości jednego z alleli mierzona w PyroMark Q24 MDx jako funkcja alleli wejściowych (spodziewanych) powinna dać wartość R^2 większą niż 0,9.

W przypadku badań AQ, warianty alleli, wliczając w to pozycję zmienną, mogą zostać wymieszane w różnych proporcjach, podobnie jak w przypadku procedury badania CpG. Jeśli pozycja zmienna w badaniu AQ to SNP, najłatwiejszym sposobem na sprawdzenie równej amplifikacji jest porównanie punktów szczytowych heterozygoty. Jeśli SNP jest widoczne jako przyłączenie pojedynczej zasady, np. AAC/TGG to obydwa allele (szczyty C i T) powinny dawać punkty o tej samej wysokości. Heterozygota InDel powinna dać 50% usunięcie

Przygotowanie próbki

Użyć 5–20 μ l z 25 μ l PCR do unieruchomienia Streptavidin Sepharose High Performance (GE Healthcare) zgodnie ze wskazówkami podanymi w Dziale 5.3.3. Będzie to odpowiadać ok. 0,5–4 pikomoli produktu PCR, w zależności od efektywności PCR.

Uwaga: W przypadku korzystania z zestawu PyroMark PCR w większości wypadków do uzyskania satysfakcjonujących wyników pirosekwencjonowania wystarczy 5–10 μ l produktu PCR. Objętość ta powinna zostać dostosowana w taki sposób, żeby osiągnąć pojedyncze punkty szczytowe na poziomie min. 40 RLU na pyrogramie.

Analiza pirosekwencjonowania

Jeśli nie podano inaczej, w przypadku wszystkich nastawień należy użyć domyślnych ustawień oprogramowania.


Nastawianie badania

Badania AQ i CpG

Podczas tworzenia badania AQ lub CpG sekwencja do analizy powinna zawierać liczbę zasad wystarczającą do wygenerowania min. 5 niezmiennych punktów odniesienia. W przypadku InDel przed pozycją zmienną powinno pojawić się kilka punktów szczytowych.

Jeśli starter sekwencjonujący jest umieszczony w sąsiedztwie pozycji podlegającej analizie, część sekwencji za pozycją zmienną należy również umieścić w okienku tekstowym „Sequence to Analyze” (Sekwencja do analizy). Należy upewnić się, że ostatnia zasada w okienku tekstowym nie jest częścią pozycji zmiennej.

Puste dyspensy są generowane automatycznie przez oprogramowanie i pełnią rolę wbudowanych kontroli jakości danego badania. Nie należy nigdy wyłączać pustych dyspens, gdyż stanowią one doskonały wskaźnik nietypowego przyłączania nukleotydów. W przypadku ręcznego ustawiania kolejności dyspensy, należy uwzględnić odpowiednią liczbę dyspens pustych. Jeśli to możliwe, kolejność dyspensy należy rozpocząć od dyspensy pustej i zastosować je w liczbie min. odpowiadającej liczbie pozycji zmiennych.

Należy zwracać szczególną uwagę na wskazówki i ostrzeżenia wskazywane przez czerwoną ikonę  i, jeśli się ona pojawi, zastosować odpowiednie zmiany.

Kontrole obróbki wodorosiarczanem w badaniach CpG

Podczas tworzenia badania CpG zaleca się użycie kontroli obróbki wodorosiarczanem. Cytosyna, po której nie ma guaniny, wskazana w PyroMark ADSW jako pomarańczowe T, powinna zostać w pełni przekształcona do tyminy podczas obróbki wodorosiarczanem i dzięki temu może służyć jako kontrola reakcji. Podczas tworzenia badania CpG w programie PyroMark Q24 MDx, program wskazuje możliwą dyspensę jako kontrolę reakcji obróbki wodorosiarczanem. Do badania można


wprowadzić oryginalną sekwencję (przed zastosowaniem wodorosiarczynu), która może zostać użyta do sprawdzenia, czy sugerowane kontrole to C przekształcone w T (w odwrotnym badaniu: G przekształcone w A) i czy może ono stanowić kontrolę testu czy też nie. Preferowane kontrole to te dyspensy, które znajdują się na początku sekwencji i/lub odzwierciedlają przyłączenia pojedynczych zasad.

Badanie SQA

Doświadczenia z sekwencjonowaniem znacznych ilości wzorników wskazują, że kolejność dyspensy n(CTGA) daje zazwyczaj najlepszą jakość sekwencjonowania. Poszczególne wzorniki mogą jednak dawać lepszy wyniki przy zastosowaniu innej kolejności dyspensy.

Tam, gdzie to możliwe badania SQA, które zawierają rozdzielczość różnych sekwencji powinny być projektowane tak, żeby rozdzielczość ta nie zależała od dokładnego sekwencjonowania homopolimerów. Dodatkowo, na początku sekwencji warto umieścić kilka znanych zasad, najlepiej punktów szczytowych. Można ich używać jako punktów odniesienia ułatwiających ustalenie poziomów punktów w trudnych badaniach.

Należy upewnić się, że początkowa próbka DNA jest czysta oraz że test jest zdolny do szczególnej amplifikacji i/lub sekwencjonowania wyłącznie jednej, docelowej sekwencji w danej próbce. W innym przypadku badanie może wygenerować wymieszaną sekwencję, której nie będzie można przeanalizować.

Należy zwracać szczególną uwagę na wskazówki i ostrzeżenia wskazywane przez czerwoną ikonę  i, jeśli się ona pojawi, zastosować odpowiednie zmiany.

Walidacja nowego badania

Kontrole

Wszystkie nowe badania muszą zostać zwalidowane przez użytkownika. W przypadku testowania nowego badania należy użyć referencyjnej próbki DNA i upewnić się, że korzystacie Państwo z odpowiednich parametrów analizy programu PyroMark Q24 MDx Software. Interakcje pomiędzy starterami czy pętlami uformowanymi na jednoniciowym DNA mogą stanowić miejsce do przyłączenia zasad przez polimerazę DNA. W przypadku pierwszej analizy badania należy zastosować następujące kontrole:

- PCR bez wzornika DNA. Pozwoli wskazać, czy startery wchodzi w reakcję dającą sygnał w tle reakcji pirosekwencjonowania.
- PCR ze wzornikiem DNA ale bez startera sekwencjonującego. Pozwoli to wskazać, czy wzornik zapętlą się i czy daje sygnał w tle reakcji pirosekwencjonowania.
- Starter sekwencjonujący bez produktu PCR. Pozwoli wskazać, czy starter sekwencjonujący może tworzyć dupleksy i zakręty oraz dawać sygnał w tle reakcji pirosekwencjonowania.
- Biotynylowany starter bez produktu PCR. Pozwoli wskazać, czy biotynylowany starter może tworzyć dupleksy i zakręty oraz dawać sygnał w tle reakcji pirosekwencjonowania.
- Starter sekwencjonujący i biotynylowany (razem) bez produktu PCR. Pozwoli wskazać, czy starter sekwencjonujący i biotynylowany może tworzyć dupleksy i zakręty oraz dawać sygnał w tle reakcji pirosekwencjonowania.

Pyrogramy po użyciu tych kontroli nie powinny wskazywać żadnych znaczących punktów szczytowych po jakimkolwiek dodaniu nukleotydu.

Ocena jakości

Jeżeli cokolwiek w badaniu może zmniejszyć jego jakość, użytkownik zostanie o tym poinformowany przez oprogramowanie do analizy. Najwyższym celem dobrze zoptymalizowanego badania jest to, żeby wszystkie pozycje zmienne w badaniach AQ i CpG, jak również sekwencja w oknie kontroli jakości badania SQA, otrzymały potwierdzenie pozytywnej kontroli jakości („Passed” – Zaliczone) przy wykorzystaniu domyślnych lub bardziej restrykcyjnych parametrów analizy. Po analizie wyniki takie zostaną przedstawione na niebiesko na pasku jakości studzienki. Wyniki o niższej jakości są wskazywane jako „Check” (Sprawdzić) [kolor żółty] i „Failed” (Nie zaliczono) [kolor czerwony] razem z komunikatem błędu.

Wyniki analizy

W przypadku próbek i kontroli pozytywnej należy celować w:

- Odpowiednią intensywność sygnału. Celować w pojedyncze punkty szczytowe o wysokości min. 40 RLU
- Brak tła w pustych dyspensach
- Brak tła na pozycjach zmiennych (AQ i CpG)
- Spodziewany wzór odniesienia sekwencji (AQ i CpG)
- Wszystkie pozycje (AQ i CpG) i okno kontroli jakości (SQA) ocenione pod względem jakościowym jako „Passed” (Zaliczone).

Ocena jakości badań AQ i CpG opiera się na kontekście sekwencji oraz wynikach pozycji analizowanych. Odchylenia od wbudowanej kontroli jakości są wskazywane jako ostrzeżenia na obszarze „Well Information” (Informacje o studzience).

Wyniki analizy badań SQA opierają się na obecności punktów szczytowych na pyrogramie, w odniesieniu do poziomu wysokości punktów oszacowanej przez urządzenie.

Dołączenie znanych zasad do badania SQA może polepszyć szacowanie poziomu punktów szczytowych.

Strona celowo pozostawiona pustą

Załącznik C

Klauzula odpowiedzialności

QIAGEN jest zwolniony z wykonania zobowiązań ciążących na nim na mocy niniejszej gwarancji w zakresie, w jakim wady zostaną spowodowane przez naprawy lub modyfikacje sprzętu przeprowadzane przez osoby, które nie są pracownikami lub współpracownikami firmy QIAGEN, za wyjątkiem sytuacji, w których zezwala ona [firma QIAGEN] na przeprowadzenie naprawy lub modyfikacji na mocy pisemnej zgody.

Wszystkie materiały wymienione w ramach niniejszej gwarancji będą gwarantowane jedynie przez resztę okresu pierwotnego okresu gwarancyjnego i w żadnym wypadku nie powyżej pierwotnego okresu wygaśnięcia gwarancji, chyba że za wyraźną pisemną zgodą przedstawiciela firmy. Czytniki, urządzenia interfejsu i towarzyszące im oprogramowanie posiada gwarancje jedynie przez czas oferowany przez producenta tych urządzeń. Oświadczenia i zapewnienia złożone przez jakąkolwiek osobę (wliczając w to przedstawicieli QIAGEN) które są niezgodne lub sprzeczne z warunkami niniejszej gwarancji nie mogą zostać uznane za wiążące wobec Firmy dopóki nie są przedstawione w formie pisemnej i zaakceptowane przez reprezentanta QIAGEN.

Strona celowo pozostawiona pustą

Indeks

- A
- Administracja
 - odzyskiwanie plików PyroMark Q24 5-30
 - aparat 5-1
 - Aktualizacja
 - analiza oprogramowania 4-3
 - oprogramowanie urządzenia 5-3
 - Analiza
 - tryby 5-24
 - raporty 5-27
 - oprogramowanie 3-6
 - Analiza reakcji 5-24
- C
- Czyszczenie
 - bloku grzejnego i światłowodów 6-3
 - aparatu 6-2
 - kartridża z odczytnikami 5-22
 - próżniowej stacji roboczej 6-5
- D
- Dane techniczne A-1
- G
- I
- Informacje dotyczące bezpieczeństwa 1-1
 - Instalacja
 - oprogramowanie do analizy 4-3
 - wymagania dotyczące uziemienia 4-3
 - wymagania dotyczące zasilania 4-2
 - wymagania dotyczące miejsca pracy 4-1
 - system 4-1
- K
- Kolory
 - poziomów metylacji 5-26
 - oceny jakości 5-25
 - Konserwacja 6-1
 - Kopiowanie
 - plików dziennika 5-2
 - ostatnich zapisanych reakcji 5-2
 - niezapisanych reakcji 5-1
- N
- Nastawianie
 - testu 5-4, B-5
 - PCR B-2
 - reakcji 5-4
- O
- Obsługa 5-1
 - Odzyskiwanie plików PyroMark Q24 5-30
 - Ostrzeżenia 1-1
- P
- PCR 1
 - optymalizacja B-4
 - nastawianie B-2
 - Przygotowanie próbek 3-6, 5-8
 - Przerywanie reakcji 5-21
 - PyroMark Q24 3-4
- Q
- Ocena jakości 5-25, B-8

Indeks

- R
 - kartridża z odczytnikami 5-22
- Reakcja
 - przerywanie 5-21
 - analiza 5-24
 - kończenie i zamykanie 5-28
 - monitorowanie 5-20
 - przetwarzanie 5-17
 - ustawianie 5-4
- Rozwiązywanie problemów 7-1
- S
 - Serwisowanie 6-1
 - Słowniczek 8-1
 - Sprawdzanie
 - poziomu płynu chłodzącego 5-30
 - wydajności systemu 6-1
- T
- Test
 - projektowanie i walidacja B-1
 - nastawianie 5-4, B-5
- Test
 - sond filtrujących 5-9
- U
 - Usuwanie odpadów A-5
 - Uwagi 1-1
- W
 - Wentylacja 1-5, 4-2
 - Weryfikacja właściwej instalacji i działania 7-7
 - Wsparcie techniczne 2-2
 - Wymiana
 - sond filtrujących 6-6
 - gumowej uszczelki 6-7
 - przewodu 6-8
 - filtra odpadów 6-9
 - Wyświetlanie wyników analizy 5-25
 - Wzornik wyjściowy B-2
- Z
 - Zasada metody PyroMark Q24 3-3
 - Zasada pirosekwencjonowania 3-1

www.qiagen.com

Australia ■ techservice-au@qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Belgium ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

Canada ■ techservice-ca@qiagen.com

China ■ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ■ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ■ techservice-nordic@qiagen.com

France ■ techservice-fr@qiagen.com

Germany ■ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ■ techservice-hk@qiagen.com

India ■ techservice-india@qiagen.com

Ireland ■ techservice-uk@qiagen.com

Italy ■ techservice-it@qiagen.com

Japan ■ techservice-jp@qiagen.com

Korea (South) ■ techservice-kr@qiagen.com

Luxembourg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ■ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ■ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ■ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ■ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ■ techservice-ch@qiagen.com

UK ■ techservice-uk@qiagen.com

USA ■ techservice-us@qiagen.com

