



Juli 2024

Produktark

# QIAcuityDx<sup>®</sup> Universal MasterMix Kit

Version 1

**IVD**

Til in vitro-diagnostisk brug

Til laboratoriebrug



**REF**

260101, 260102



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND

R1

**MAT**

1134829DA

Sample to Insight

# Indholdsfortegnelse

Kit-indhold .....	3
Forsendelse og opbevaring .....	4
Stabilitet under brug .....	4
Tilsligtet anvendelse .....	5
Aktive indholdsstoffer .....	5
Symboler .....	6
Sikkerhedsinformation .....	8
Universal MasterMix .....	9
Oplysninger til brug i nødstilfælde .....	9
Beskrivelse og princip .....	10
Bemærkninger før start .....	11
Procedure .....	13
Bortskaffelse .....	17
Kvalitetskontrol .....	18
Begrænsninger .....	19
Fejlfinding .....	20
Bestillingsinformation .....	23
Revisionshistorik for dokumentet .....	24

# Kit-indhold

Kat.-nr. Kit	260101 1 ml	260102 5 ml
QIAcuityDx Universal MasterMix	1 x 1180 µl	5 x 1180 µl
MgCl <sub>2</sub> , 200mM	1 x 1000 µl	2 x 1000 µl
RNase-free water	2 x 1,9 ml	5 x 1,9 ml

# Forsendelse og opbevaring

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit sendes på tøris. Det skal straks efter modtagelse opbevares ved  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  til  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$  i en fryser med konstant temperatur. Hvis nogen af komponenterne i QIAcuityDx Universal MasterMix Kit ikke er frosne ved modtagelse, hvis den ydre emballage har været åbnet under transporten, eller hvis forsendelsen ikke indeholder en følgeseddel eller reagenserne, skal der rettes henvendelse til QIAGEN Teknisk Service eller lokale distributører (besøg [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

Når QIAcuityDx Universal MasterMix Kit opbevares korrekt, er det stabilt indtil udløbsdatoen, der er trykt på etiketten.

Undlad at bruge dem, hvis de ikke har været opbevaret i henhold til disse specifikationer, hvis emballagen er beskadiget, eller hvis der er andre synlige tegn på nedbrydning eller fejl.

## Stabilitet under brug

Når de er åbnet, kan reagenser opbevares i deres originale emballage ved  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$  til  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  indtil udløbsdatoen, der er angivet på emballagen. Undgå gentagen optøning og indfrysning. Et reagens må højst indfryses og optøes fem gange.

Reagenserne skal optøes helt ved stuetemperatur ( $15\text{-}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) i maksimalt 30 minutter før brug.

# Tilsligtet anvendelse

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit er et brugsklart dPCR-MasterMix-reagenssæt til brug sammen med QIAcuityDx Four-instrumentet sammen med tilhørende analysespecifikke reagenser som en del af validerede diagnostiske testprocedurer.

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit er ikke en automatiseret enhed og er beregnet til laboratoriebrug af uddannet personale.

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit er beregnet til *in vitro*-diagnostisk brug.













Det er brugerens ansvar at validere systemets ydelse for procedurer, der anvendes i deres laboratorium, og som ikke er dækket af QIAGEN-ydelsesundersøgelser.

## Aktive indholdsstoffer

Reagens	Navn	Aktivt indholdsstof	Koncentration (% w/w)
Masterblanding	QIAcuityDx Universal MasterMix	QuantiNova® DNA-polymerase (5,6 E/ $\mu$ l)	12 %
		dNTP Mix (10 mM pr. stk)	10 %
Magnesiumchlorid	MgCl <sub>2</sub> , 200mM	Ingen	–
Vand	RNase-frit vand	Ingen	–

# Symboler

Følgende symboler kan evt. findes i brugsanvisningen på emballagen og etiketten:

	Dette produkt opfylder kravene i Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EU) 2017/746 om medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik (IVDR).
	Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik
	Katalognummer
	Materialenummer
	Lotnummer
	Globalt handelsvarenummer
	Unikt enheds-id
	Indeholder
	Komponent
	Antal
	Produktionsdato
<b>Rn</b>	R står for revision af produktbladet, og n står for revisionsnummeret
<b>Vn</b>	V står for revision af produktbladet, og n står for versionsnummeret
	Anvendes inden



Temperaturbegrænsninger



Producent



Læs brugervejledningen



<N>

Indeholder tilstrækkeligt med reagenser til <N>-reaktioner



Beskyt mod direkte lys



Advarsel



Sundhedsfare

# Sikkerhedsinformation

Der skal altid anvendes laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemiske stoffer. Se de relevante sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) for yderligere oplysninger. Disse er tilgængelige online i et praktisk og kompakt PDF-format på adressen [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), hvor det er muligt at finde, få vist og udskrive SDS'et for hvert QIAGEN®-kit og tilhørende komponenter.

Bemærk: Alvorlige hændelser med relation til brugen af udstyret skal muligvis rapporteres til producenten og den ansvarlige myndighed i det land, hvor brugeren og/eller patienten befinder sig.

Prøver og præparater er potentielt smitsomme. Prøve- og analyseaffald skal bortskaffes i henhold til lokale sikkerhedsprocedurer.

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit indeholder QuantiNova DNA-polymerase, som produceres ved en bakteriel fermenteringsproces. Enzymet afrenses fra mikroberne ved afslutningen af behandlingen for at fjerne enhver resterende kilde til potentielt smitsomt materiale.



## Universal MasterMix



Indeholder: 2-methylisothiazol-3(2H)-one; 1,2,4-triazol. Kan forårsage allergisk hudreaktion. Kan skade fertiliteten eller det ufødte barn. Se de særlige instruktioner før brug. Må først håndteres, når alle sikkerhedsforanstaltninger er læst og forstået. Bær beskytteshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse. Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søg lægehjælp. Opbevares under lås. Indholdet/beholderen bortskaffes til godkendt behandlingsanlæg.

---

## Oplysninger til brug i nødstilfælde

CHEMTREC

USA & Canada: 1-800-424-9300

Uden for USA og Canada: +1 703-527-3887

# Beskrivelse og princip

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit består af en brugsklar dPCR-MasterMix indeholdende reaktionskemi i PCR-buffer og vores eget referencefarvestof og separate rør med 200 mM magnesiumchlorid ( $MgCl_2$ ) 100 % w/w og RNase-frit vand 100 % w/w.

En komplet liste over materialer, der skal bruges sammen med QIAcuityDx Universal MasterMix Kit, kan findes i *Brugervejledningen til QIAcuityDx-systemet*.

Denne protokol er optimeret til kvantificering af DNA- eller cDNA-mål ved hjælp af QIAcuityDx Universal MasterMix Kit med TaqMan®-prober i en singleplex- eller multiplexreaktion ved hjælp af QIAcuityDx-systemet.

# Bemærkninger før start

- Et fluorescerende farvestof leveres som en komponent i QIAcuityDx Universal MasterMix Kit og kan bruges til pålidelig detektion af korrekt partitionsfyldning i de QIAcuityDx-kompatible nanoplader.
- For at opnå den højeste effektivitet af dPCR-analysen ved hjælp af TaqMan-prober bør amplikoner ideelt set være 60-150 bp lange. I lighed med qPCR kan længere amplikoner også bruges, men analysedeevnen kan være forringet.
- Før du udfører multiplexanalyser, skal du vælge passende kombinationer af reporterfarvestoffer og quencherer, der er kompatible med multiplexanalyser ved hjælp af detektionsoptikken på QIAcuityDx Four-instrumentet (se tabel 1).

**Vigtigt:** En integreret krydstalekorrektion anvendes på billeder genereret af QIAcuityDx Four-instrumentet. Denne korrektion anvendes for at effekterne virkningerne af spektralt overlap mellem tilstødende optiske kanaler og fluoroforer. Brug af ikke-understøttede farvestoffer kan resultere i suboptimal krydstalekorrektion.

**Tabel 1. Optiske kanaler og understøttede fluoroforer til QIAcuityDx Four-instrumentet**

Kanal	Excitation (nm)	Emission (nm)	Understøttede fluoroforer
Green	463-503	518-548	FAM™
Yellow	514-535	550-564	HEX™
Orange	543-565	580-606	TAMRA™
Red	570-596	611-653	ROX™
Crimson	590-640	654-692	Cy5®

- Ikke-fluorescerende quencherer skal anvendes med hver probe. Dobbeltquenchede prober kan anvendes til at forbedre signal-til-støj-forholdet i visse analyser.

- Det anbefales at starte analyseudviklingen med de cyklusbetingelser og primerkoncentrationer, der er angivet i denne protokol. PCR-cyklusbetingelserne skal starte med et indledende inkubationstrin på 2 minutter ved 95 °C for at aktivere QuantiNova DNA-polymerasen i QIAcuityDx Universal MasterMix Kit.
- For at lette brugen anbefaler vi at forberede en 10x eller højere koncentration af primer-probe-mix indeholdende målspecifikke primere og probe til hvert af dine mål. En 10x primer-probe-blanding består af 1-8 µm forwardprimer, 1-8 µm reverseprimer og 0,5-4 µm probe i TE-buffer med lav EDTA (0,1 mM).
- En DNA-skabelon med en gennemsnitlig længde på >30 kb skal muligvis fragmenteres ved restriktionsdigestion før partitionering. Enzymatisk fragmentering af større DNA sikrer jævn fordeling af skabelonen gennem den QIAcuityDx-kompatible nanoplate, hvilket igen sikrer nøjagtig og præcis kvantificering. Restriktionsdigestion er ikke nødvendig for stærkt fragmenteret DNA (f.eks. FFPE DNA eller cirkulerende DNA) eller cDNA. Sørg for at bruge enzymer, der ikke kløver i den amplificerede sekvens. Vi anbefaler derfor restriktionsenzymer.
- Prøveinputmængder skal være baseret på nanoplatepartitionsnumrene med en øvre grænse på 5 kopier pr. partition, når der bruges TaqMan-probebaseret detektion (Tabel 2). Det ideelle antal kopier pr. partition er mellem 0,5-3. Hvis antallet af kopier ikke kan bestemmes før starten af eksperimentet, anbefales det at udføre et indledende titreringseksperiment for at bestemme den optimale prøveinputmængde.

**Tabel 2. Maksimalt antal kopier pr. reaktion pr. pladetype**

Pladetype	Antal partitioner	Øvre grænse for antal kopier pr. reaktion	Analyseret volumen (µl)	Samlet reaktionsvolumen (µl)	Maksimalt antal kopier pr. analyseret volumen	Anslået maksimalt antal kopier pr. reaktion
8.500 nanoplader	8.500	5	2,9	13	42.500	170.000
26.000 nanoplader	26.000	5	24,0	42	130.000	217.000

# Procedure

1. Optø QIAcuityDx Universal MasterMix, magnesiumchlorid, skabelon-DNA eller cDNA, primer-probe-blanding og RNase-frit vand ved stuetemperatur i maksimalt 30 minutter.
2. Bland hver af opløsningerne ved vortexblanding ved fuld hastighed i 3-5 sekunder. Rørene skal centrifugeres kort efter blanding for at opsamle væskerne i bunden af rørene.
3. Forbered en analysemasterblanding til antallet af nødvendige reaktioner iht Tabel 3, minus skabelon-/ikke-skabelon-kontrol (NTC). Det er ikke nødvendigt at holde prøver på is under reaktionsopsætning eller efterfølgende trin.

**Tabel 3. Anbefalet opsætning af analysemasterblanding**

Komponent	Volumen/brønd (24/96-brønds, 8.500 nanoplader)	Volumen/brønd (24-brønds, 26.000 nanoplader)	Endelig koncentration
QIAcuityDx Universal MasterMix	3,3 µl	11 µl	1 x
MgCl <sub>2</sub> , 200 mM	0,41 µl*	1,38 µl*	6,28 mM*
10x primer-probe blanding (pr. analyse)†	1,32 µl†	4,4 µl†	0,1-0,8 µM forward-primer 0,1-0,8 µM reverse-primer 0,05-0,4 µM probe
Restriktionsenzym (valgfrit)	Op til 1 µl	Op til 1 µl	0,025-0,25 E/µl
RNase-frit vand	Variabel	Variabel	
Skabelon-DNA eller cDNA (tilføjet i trin 5)	Variabel‡	Variabel‡	
<b>I alt</b>	<b>13,2 µl</b>	<b>44 µl</b>	

\*Anbefalet startkoncentration, volumen kan variere afhængigt af optimering.

†Volumen kan variere afhængigt af koncentrationen af den anvendte primer-probeblanding og den endelige malkoncentration.

‡Passende skabelonmængder afhænger af forskellige parametre (se Bemærkninger før start).

- Bland masterblandingen ved vortexblanding ved fuld hastighed i 3-5 sekunder. Centrifuger kortvarigt.
- Dispensér passende mængder af analysemasterblandingen, som indeholder alle komponenter undtagen skabelon-/ikke-skabelon-kontrol (NTC) i brøndene på en standard PCR-plade eller LoBind-rør. Tilføj derefter skabelon-DNA/NTC i hver brønd/hvert rør i det volumen, der passer til din analyse (se Bemærkninger før start).

**Bemærk:** For 2-trins RT-PCR må mængden af tilsat cDNA (fra den ufordyndede revers-transkriptionsreaktion) ikke overstige 15 % af det endelige PCR-volumen.

6. Bland underblandingen (analysemasterblanding og skabelon) i en PCR-plade ved at pipettere op og ned 10 gange i brønden eller ved vortexblanding ved fuld hastighed i 3-5 sekunder, hvis der blandes i et rør. Centrifuger pladen/røret kortvarigt for at samle væsken i bunden af brønden/røret.
7. Overfør straks indholdet af hver brønd/hvert rør til brøndene på nanopladen.

**Bemærk:** Sørg for, at der ikke dannes luftbobler under overførslen til nanopladen, ved at pipettere til det første stop. Sørg for at pipettere blandingen ind i inputbrønden og ikke outputbrønden. For at undgå at beskadige den optiske overflade og for at reducere dannelsen af støv, der kan påvirke billedannelsen og analysen af resultater, anbefaler vi at placere nanopladen i en nanopladebakke, før reaktionsblandingen pipetteres ind i nanopladen. Nanopladebakken skal forrengøres med en fnugfri serviet før brug.

8. Forsegl nanopladerne korrekt ved hjælp af nanopladeforseglingen, der er inkluderet i pladesættene.

**Bemærk:** Du kan se den nøjagtige forseglingsprocedure i *Brugervejledning til QIAcuityDx System User Manual*.

9. Hvis et restriktionsenzym til DNA-digestion er inkluderet i reaktionen, skal du lade pladen stå i 10 minutter ved stuetemperatur.
10. Programmér QIAcuityDx Four-instrumentets cyklusapparat i henhold til Tabel 4.

**Tabel 4. Anbefalede dPCR-cyklusforhold**

Trin	Tid	Temperatur (°C)	Antal cyklusser
Første aktivering af PCR-opvarmning	2 min.	95	1
Denaturering	15 sek.	95	40*
Kombineret afhærdning/udvidelse*	30 sek.*	60	

\*Temperatur/tid/antal cyklusser kan variere afhængigt af analysetype

11. Placer nanopladden i QIAcuityDx Four-instrumentet, og start dPCR-programmet i henhold til *Brugervejledning til QIAcuityDx-systemet*.



# Bortskaffelse

Bortskaf brugt og ubrugt produkt i overensstemmelse med lokale og nationale regler. Følg anbefalingerne på sikkerhedsdatabladet (SDS, Safety Data Sheet).

# Kvalitetskontrol

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

# Begrænsninger

QIAcuityDx Universal MasterMix Kits ydeevne er blevet fastslået med de relevante efterfølgende QIAGEN-analyser. Se den respektive brugsanvisning for brug af den respektive efterfølgende QIAGEN-anvendelse for detaljerede oplysninger om håndtering af dette produkt inden for det pågældende workflow.

Det er brugerens ansvar at kontrollere egnetheden af analyser, der udføres i laboratoriet og ikke er omfattet af QIAGENs ydeevneundersøgelser. For at minimere risikoen for en negativ indvirkning på diagnostiske resultater skal der anvendes hensigtsmæssige kontroller for efterfølgende anvendelser. For yderligere validering anbefales retningslinjen i *International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) in ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology*.

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit er ikke fremstillet under sterile forhold, og den kan derfor indeholde andre indholdsstoffer, som kan påvirke målingen. Hvis dette øger risikoen for en negativ indvirkning på diagnostiske resultater skal der anvendes hensigtsmæssige kontroller for efterfølgende anvendelser.

# Fejlfinding

Dette afsnit indeholder oplysninger om, hvad du skal gøre i tilfælde af problemer med brugen af QIAcuityDx Universal MasterMix Kit. Hvis yderligere assistance er påkrævet, skal du kontakte QIAGEN Teknisk Service ved hjælp af kontaktoplysningerne nedenfor. De viderestiller dig herefter til de relevante landespecifikke kontakt:

Websted: [support.qiagen.com](https://support.qiagen.com)

Problem	Kommentarer og forslag
<b>NTC-amplifikation</b>	
Analyse-design	Omdesign primere/prober. Optimer analysebetingelserne ved at variere primerprobekoncentrationen og MgCl <sub>2</sub> -koncentrationen.
Kontaminering i reagenser	Kassér reagenser, og gentag analysen med nye reagenser.
Kontaminering i analyseopsætning.	Forebyg kontaminering ved at dekontaminere arbejdsområdet med passende rengøringsmidler.
<b>Ingen amplifikation</b>	
PCR-betingelser ikke optimeret	Øg den indledende denatureringstid. Øg afhædnings-/udvidelsestiden.
Utilstrækkelig startskabelon	Forøg mængden/koncentrationen af startskabelonen, der tilsættes analysemasterblandingen.
<b>Mætningsindikator</b>	
Overmætning af prober	Reducer eksponeringstiden i billedparametrene. Reducer forstærkningen i billeddannelsesparametrene.
<b>Utilstrækkelig adskillelse mellem positive og negative klynger</b>	
Analysedesign	Optimer analysebetingelserne ved at variere primerprobekoncentrationen og MgCl <sub>2</sub> -koncentrationen. Skift til dobbeltquenchede TaqMan-prober for at øge signal-til-støj-forholdet.
PCR-betingelser ikke optimeret	Øg den indledende denatureringstid. Øg afhædnings-/udvidelsestiden.
<b>Forskelle observeret i absolutte kvantificeringsværdier mellem kørsler</b>	
Utilstrækkelig tilsætning af QIAcuityDx Universal MasterMix	Sørg for, at den endelige koncentration af QIAcuityDx Universal MasterMix i underblandingen er 1x (og ikke 4x-stamopløsningen).
Variation i optønings-/opsætningstid	Forlængede optønings-/opsætningstider kan have en negativ indvirkning på absolutte kvantificeringsværdier. For at opnå optimal ydeevne skal reagenserne optøs i maksimalt 30 minutter, og når underblandingen (analysemasterblanding + skabelon) er klargjort, skal den straks tilsættes nanopladen. Hvis forlængede optønings-/opsætningstider er nødvendige, skal disse være specifikke for hver analyse for at sikre, at ændringer i den absolutte kvantificering ikke påvirker slutresultaterne.

**Problem****Kommentarer og forslag**

---

PCR-betingelser ikke optimeret

Optimer denatureringstemperaturen.

Optimer afhærdnings-/udvidelsestemperaturen.

**Uoverensstemmende resultater mellem nanopladebrønde**

PCR-betingelser ikke optimeret

Optimer aktiveringstiden ved at øge fra 2 minutter til 15 minutter.

# Bestillingsinformation

Produkt	Indhold	Kat.-nr.
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (1 mL)	Til klargøring af op til fire QIAcuityDx-nanoplader: 1 x QIAcuityDx Universal MasterMix, 1 x MgCl <sub>2</sub> , 200 mM, 2 x RNase-frit vand	260101
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (5 mL)	Til klargøring af op til tyve QIAcuityDx-nanoplader: 5 x QIAcuityDx Universal MasterMix, 2 x MgCl <sub>2</sub> , 200 mM, 5 x RNase-frit vand	260102

Der skal udvises passende omhu og årvågenhed ved håndteringen af produkterne. Vi anbefaler alle brugere af QIAGEN®-produkter at følge enhver gældende lokal lovgivning, og vi anbefaler også at følge alle gældende standarder og retningslinjer.

# Revisionshistorik for dokumentet

Dato	Ændringer
R1, juli 2024	Første udgivelse

## Begrænset licensaftale for QIAcuityDx® Universal MasterMix Kit

Brug af dette produkt betyder, at enhver køber eller bruger af produktet accepterer følgende vilkår:

1. Produktet må kun anvendes i overensstemmelse med de protokoller, der følger med produktet, og denne brugsanvisning og kun sammen med de komponenter, der er inkluderet i panelet. QIAGEN giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkludere komponenterne i dette panel sammen med komponenter, der ikke er inkluderet i dette panel, undtagen som beskrevet i de protokoller, der følger med produktet, denne brugsanvisning og andre protokoller, der er tilgængelige på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Nogle af disse andre protokoller er stillet til rådighed af QIAGEN-brugere for QIAGEN-brugere. Disse protokoller er ikke grundigt testet eller optimeret af QIAGEN. QIAGEN hverken garanterer for dem eller for, at de ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
2. Ud over de udtrykkeligt givne licenser giver QIAGEN ingen garanti for, at dette panel, og/eller brugen af det, ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Dette panel og dets komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, genoprettes eller videresælges.
4. QIAGEN afviser specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køberen og brugeren af panelet indvilliger i ikke at tage, eller lade andre tage, skridt der kunne føre til, eller fremme, handlinger der forbydes ovenfor. QIAGEN kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale ved enhver domstol og vil inddrive alle undersøgelses- og sagsomkostninger, herunder advokatsalærer, i ethvert søgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle deres intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med panelet og/eller komponenterne deri.

Vedrørende opdaterede licensbetingelser henvises til [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAcuityDx®, QuantiNova® (QIAGEN Group); Cy® (GE Healthcare); Taqman® (Roche Molecular Systems, Inc.); FAM™, HEX™, ROX™, TAMRA™, (Thermo Fisher Scientific eller dets datterselskaber). Registrerede navne, varemærker osv. anvendt i dette dokument, selv når de ikke specifikt er markeret som sådan, skal ikke betragtes som værende juridisk ubeskyttede.

07/2024 HB-3592-001 © 2024 QIAGEN. Alle rettigheder forbeholdes.



Denne side er tom med vilje.

Denne side er tom med vilje.

Denne side er tom med vilje.

