



юли 2024 г.

Листовка на продукта

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

Версия 1

**IVD**

За инвитро диагностика

За лабораторна употреба



**REF**

260101, 260102



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ГЕРМАНИЯ

R1

**MAT**

1134829BG

Sample to Insight

# Съдържание

Съдържание на набора .....	3
Доставка и съхранение .....	4
Стабилност при употреба .....	4
Предвидена употреба .....	5
Активни съставки .....	5
Символи .....	6
Информация за безопасността .....	8
Universal MasterMix .....	9
Информация за спешни случаи .....	9
Описание и принцип .....	10
Бележки преди започване .....	11
Процедура .....	13
Изхвърляне .....	17
Контрол на качеството .....	18
Ограничения .....	19
Отстраняване на проблеми .....	20
Информация за поръчка .....	23
Хронология на редакциите на документа .....	24

# Съдържание на набора

Кат. № Набор	260101 1 mL	260102 5 mL
QIAcuityDx Universal MasterMix	1 × 1180 µL	5 × 1180 µL
MgCl <sub>2</sub> , 200 mM	1 × 1000 µL	2 × 1000 µL
Вода без РНКаза	2 x 1,9 mL	5 x 1,9 mL

## Доставка и съхранение

Наборът QIAcuityDx Universal MasterMix Kit се транспортира в сух лед. Той трябва да бъде съхранен непосредствено след получаване при  $-30$  до  $-15^{\circ}\text{C}$  във фризер с постоянна температура. Ако някой от компонентите на набора QIAcuityDx Universal MasterMix Kit не е замразен при пристигането, външната опаковка е била отворена по време на транспортиране или пратката не съдържа опаковъчен лист или реактиви, моля, свържете се с някой от отделите за техническо обслужване на QIAGEN или с местните дистрибутори (посетете [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

Когато се съхранява правилно, наборът QIAcuityDx Universal MasterMix Kit остава стабилен до срока на годност, отпечатан на етикета.

Да не се използва, ако е съхраняван извън спецификациите, ако опаковката е била повредена или ако има други признаци на влошаване или неизправност.

## Стабилност при употреба

След отваряне реактивите могат да се съхраняват в оригиналната им опаковка при температури  $-30$  до  $-15^{\circ}\text{C}$  до изтичане на срока на годност, посочен върху опаковката. Многократното размразяване и замразяване трябва да се избягва. Не превишавайте максималния брой от пет цикъла на замразяване и размразяване.

Преди употреба реактивите трябва да бъдат напълно размразени при стайна температура ( $15$ – $25^{\circ}\text{C}$ ) за максимум 30 минути.

# Предвидена употреба

Наборът QIAcuityDx Universal MasterMix Kit е готов за употреба реактив от главната смес dPCR с общо предназначение за използване с апарата QIAcuityDx Four, заедно със свързани специфични за анализа реактиви като част от валидирани процедури за диагностични тестове.

Наборът QIAcuityDx Universal MasterMix Kit не е автоматизирано изделие и е предназначен за лабораторна употреба от обучен персонал.

Наборът QIAcuityDx Universal MasterMix Kit е предназначен за *in vitro* диагностика.

Потребителят носи отговорност за валидиране на ефективността на системата при процедури, използвани в лабораторията, които не се обхващат от изпитванията на QIAGEN.

## Активни съставки

Реактив	Име	Активна съставка	Концентрация (% w/w)
Основна смес	QIAcuityDx Universal MasterMix	ДНК полимераза QuantiNova® (5,6 U/μL)	12%
		dNTP смес (всяка по 10 mM)	10%
Магнезиев хлорид	MgCl <sub>2</sub> , 200 mM	Няма	–
Вода	Вода без РНКаза	Няма	–

# Символи

Следните символи може да фигурират в инструкциите за употреба или на опаковката и етикетите:



Този продукт отговаря на изискванията на Европейския регламент (ЕС) 2017/746 за медицински изделия за инвитро диагностика (IVDR)



Медицинско изделие за инвитро диагностика



Каталожен номер



Номер на материала



Номер на партида



Глобален номер на търговска единица



Уникален идентификатор на изделието



Съдържа



Компонент



Номер



Дата на производство



„R“ означава редакция на листовката на продукта, а „n“ – номерът на редакцията



„V“ означава версия на листовката на продукта, а „n“ – номерът на версията



Да се използва преди



Температурни ограничения



Законен производител



Направете справка с инструкциите за употреба



Съдържа достатъчно реактиви за <N> реакции



Да се пази от светлина



Предупреждение



Опасност за здравето

# Информация за безопасността

При работа с химикали винаги носете подходяща лабораторна престилка, ръкавици за еднократна употреба и защитни очила. За повече информация вижте съответните информационни листове за безопасност (Safety Data Sheet, ИЛБ). Тези листове са на разположение онлайн в удобен и компактен PDF формат на адрес [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), където можете да намерите, прегледате и разпечатате ИЛБ за всеки набор и компонент от набор на QIAGEN®.

Обръщаме ви внимание, че може да се наложи да докладвате на производителя и регулаторния орган в страната по местожителство на потребителя и/или пациента за сериозни инциденти, възникнали във връзка с изделието.

Пробите и аликвотните части са потенциално заразни. Изхвърлете аликвотната част и отпадъка от анализа в съответствие с местните процедури за безопасност.

Наборът QIAcuityDx Universal MasterMix Kit съдържа ДНК полимераза QuantiNova, която се произвежда чрез процес на бактериална ферментация. В края на обработката ензимът се пречиства от микробите, за да се отстранят евентуални остатъчни източници на потенциално инфекциозен материал.



## Universal MasterMix



Съдържа: 2-метилизотиазол-3(2H)-он; 1,2,4-триазол. Може да причини алергична кожна реакция. Предполага се, че уврежда оплодителната способност или плода. Преди употреба се снабдете със специални инструкции. Не използвайте преди да сте прочели и разбрали всички предпазни мерки за безопасност. Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице. При явна или предполагаема експозиция: Потърсете медицински съвет/помощ. Да се съхранява под ключ. Съдържанието/съдът да се изхвърли в одобрено за целта съоръжение.

---

## Информация за спешни случаи

CHEMTREC

САЩ и Канада: 1-800-424-9300

Извън САЩ и Канада: +1 703-527-3887

## Описание и принцип

Наборът QIAcuityDx Universal MasterMix се състои от готова за употреба главна смес dPCR, съдържаща реакционни химични вещества в PCR буфер и собствено референтно багрило, и отделни епруветки с 200 mM магнезиев хлорид ( $MgCl_2$ ) 100% w/w и вода без РНКаза 100% w/w.

Пълен списък на материалите, които да се използват с набора QIAcuityDx Universal MasterMix Kit, може да бъде намерен в *Ръководството за потребителя на системата QIAcuityDx*.

Този протокол е оптимизиран за количествено определяне на ДНК или кДНК цели с помощта на набора QIAcuityDx Universal MasterMix Kit със сонди TaqMan® в единична или мултиплексна реакция с използване на системата QIAcuityDx.

## Бележки преди започване

- Флуоресцентно багрило се предоставя като компонент на набора QIAcuityDx Universal MasterMix Kit за надеждно откриване на правилното запълване на дяловете в съвместимите с QIAcuityDx наноплаки.
- За най-високо ефективния dPCR анализ с използване на сонди TaqMan, в идеалния случай ампликоните трябва да са с дължина 60–150 bp. Подобно на qPCR, могат да се използват и по-дълги ампликони, но ефективността на анализа може да бъде нарушена.
- Преди извършване на мултиплексни анализи трябва да се изберат подходящи комбинации от репортерни багрила и гасители, които са съвместими с мултиплексни анализи, с помощта на оптиката за откриване на апарата QIAcuityDx Four (вж. Таблица 1).

**Важно:** Интегрирана корекция на кръстосани смущения се прилага към изображения, генерирани от апарата QIAcuityDx Four. Тази корекция е с цел минимизиране на ефектите от спектралното припокриване между съседни оптични канали и флуорофори. Използването на неподдържани багрила може да доведе до неоптимална корекция на кръстосаните смущения.

Таблица 1. Оптични канали и поддържани флуорофори за апарата QIAcuityDx Four

Канал	Възбуждане (nm)	Излъчване (nm)	Поддържани флуорофори
Зелен	463–503	518–548	FAM™
Жълт	514–535	550–564	HEX™
Оранжев	543–565	580–606	TAMRA™
Червен	570–596	611–653	ROX™
Crimson	590–640	654–692	Cy5®

- С всяка сонда трябва да се използват нефлуоресцентни гасители. Двойно угасени сонди могат да се използват за подобряване на съотношенията сигнал/шум в определени анализи.

- Препоръчва се разработването на анализа да започне с условията на циклизиране и концентрациите на праймера, посочени в този протокол. Условията на PCR циклизиране трябва да започнат с първоначална стъпка на инкубиране за 2 минути при 95°C, за да се активира ДНК полимеразата QuantiNova ДНК в набора QIAcuityDx Universal MasterMix Kit.
- За по-лесна употреба препоръчваме приготвяне на 10x или по-висока концентрация на сместа праймер-сонда, съдържаща специфични за целта праймери, и сонда за всяка от вашите цели. 10x смес праймер-сонда се състои от 1–8 µM прав праймер, 1–8 µM обратен праймер и 0,5–4 µM сонда в ТЕ буфер с ниско съдържание на EDTA (0,1 mM).
- Може да се наложи ДНК еталон със средна дължина >30 kb да бъде фрагментиран чрез рестрикционно смилане преди разделяне. Ензимното фрагментиране на по-голяма ДНК осигурява равномерно разпределение на еталона в съвместимата с QIAcuityDx наноплака, което от своя страна осигурява точно и прецизно количествено определяне. Рестрикционно разграждане не е необходимо за силно фрагментирана ДНК (напр. FFPE ДНК или циркулираща ДНК) или кДНК. Трябва да се внимава да се използват ензими, които няма да прекъснат амплифицираната секвенция, поради което се препоръчват рестрикционни ензими.
- Входящите количества на алиquotните части трябва да се базират на номерата на дяловете на наноплаките, с горна граница от 5 копия на дял, когато се използва откриване на базата на сонда TaqMan (Таблица 2). Идеалният диапазон от копия/дял е между 0,5–3. Ако броят на копията не може да бъде определен преди началото на експеримента, се препоръчва извършване на първоначален експеримент с титруване, за да се определи оптималното входящо количество на алиquotната част.

**Таблица 2. Максимален брой копия за реакция за тип плака**

Тип плака	Брой дялове	Горна граница на копията за реакция	Анализиран обем (µL)	Общ реакционен обем (µL)	Макс. брой копия на анализиран обем	Приблизителен макс. брой копия на реакция
8,5k наноплаки	8500	5	2,9	13	42 500	170 000
26k наноплаки	26 000	5	24,0	42	130 000	217 000

# Процедура

1. Размразете QIAcuityDx Universal MasterMix, магнезиев хлорид, еталонна ДНК или кДНК, смес праймер-сонда и вода без РНКаза при стайна температура за максимум 30 минути.
2. Смесете всеки от разтворите чрез вихрово разбъркване на пълна скорост за 3–5 секунди. Епруветките трябва да се центрофугират за кратко след смесване, за да се съберат течностите на дъното на епруветките.
3. Пригответе основна смес за анализ за необходимия брой реакции според Таблица 3 минус еталона/Контрола без еталон (NTC). Не е необходимо алиquotните части да се държат върху лед по време на подготовката на реакцията или следващите стъпки.

**Таблица 3. Препоръчителна подготовка на основната смес за анализ**

Компонент	Обем/ямка (24/96-ямкови, 8,5k наноплаки)	Обем/ямка (24-ямкови, 26k наноплаки)	Крайна концентрация
QIAcuityDx Universal MasterMix	3,3 µL	11 µL	1x
MgCl <sub>2</sub> , 200 mM	0,41 µL*	1,38 µL*	6,28 mM*
10x смес праймер-сонда (на анализ)†	1,32 µL‡	4,4 µL‡	0,1–0,8 µM преден праймер 0,1–0,8 µM обратен праймер 0,05–0,4 µM сонда
Рестрикционен ензим (по избор)	До 1 µL	До 1 µL	0,025–0,25 U/µL
Вода без РНКаз	Променлива	Променлива	
Еталонна ДНК или кДНК (добавена в стъпка 5)	Променлива‡	Променлива‡	
<b>Общо</b>	<b>13,2 µL</b>	<b>44 µL</b>	

\*Препоръчителна начална концентрация, обемът може да варира в зависимост от оптимизацията.

†Обемът може да варира в зависимост от концентрацията на използваната смес праймер-сонда и крайната целева концентрация.

‡Подходящите количества на шаблона зависят от различни параметри, вижте бележките преди да започнете.

- Смесете основната смес чрез вихрово разбъркване на пълна скорост за 3–5 секунди. Центрофугирайте за кратко.
- Разпределете подходящи обеми от основната смес за анализ, която съдържа всички компоненти с изключение на еталона/контролата без еталон (NTC) в ямки на стандартна плака за PCR или епруветки LoBind. След това добавете еталонна ДНК/NTC във всяка ямка/епруветка в обема, подходящ за вашия анализ (вижте Бележки преди започване).

**Забележка:** За 2-стъпков RT-PCR обемът на добавената кДНК (от неразредената реакция на обратна транскрипция) не трябва да надвишава 15% от крайния обем за PCR.

6. Смесете подсместа (основна смес за анализ и еталон) или в плака за PCR чрез изтегляне и накапване 10 пъти в ямката, или – ако смесвате в епруветка – чрез вихрово разбъркване на пълна скорост за 3–5 секунди. Центрофугирайте плаката/епруветката за кратко, за да съберете течността на дъното на ямката/епруветката.

7. Прехвърлете незабавно съдържанието на всяка ямка/епруветка в ямките на наноплаката.

**Забележка:** Уверете се, че по време на прехвърлянето в наноплаката не се образуват въздушни мехурчета чрез изтегляне и накапване до първото междинно положение. Уверете се, че пипетирате сместа във входящата ямка, а не в изходящата. За да избегнете увреждане на оптичната повърхност и да намалите праха, който ще попречи на изобразяването и анализа на резултатите, препоръчваме да поставите наноплаката в табла за наноплака преди да пипетирате реакционната смес в наноплаката. Таблата за наноплаки трябва да бъде предварително почистена с кърпа без власинки преди употреба.

8. Запечатайте правилно наноплаките, като използвате уплътнението за наноплаки, предоставено в наборите плаки.

**Забележка:** За точна процедура за запечатване, моля, вижте *Ръководството за потребителя на системата QIAcuityDx*.

9. Ако в реакцията е включен рестрикционен ензим за разграждане на ДНК, оставете плаката за 10 минути на стайна температура.

10. Програмирайте циклера на апарата QIAcuityDx Four според Таблица 4.

**Таблица 4. Препоръчителни условия за dPCR циклизиране**

Стъпка	Време	Температура (°C)	Брой цикли
PCR първоначално топлинно активиране	2 мин	95	1
Денатуриране	15 сек	95	40*
Комбинирано топлинна обработка/удължаване*	30 сек*	60	

\*Температура/време/брой цикли могат да варират в зависимост от типа на анализа

11. Поставете наноплаквата в апарата QIAcuityDx Four и стартирайте програмата dPCR съгласно *Ръководството за потребителя на системата QIAcuityDx*.



# Изхвърляне

Изхвърлете използвания и неизползвания продукт в съответствие с местните и национални разпоредби. Следвайте препоръките в информационния лист за безопасност (ИЛБ).

## Контрол на качеството

В съответствие със сертифицираната по ISO система за управление на качеството на QIAGEN всяка партида от набора QIAcuityDx Universal MasterMix Kit е преминала изпитване по предварително определени спецификации, за да се гарантира постоянно качество на продукта.

## Ограничения

Ефективността на набора QIAcuityDx Universal MasterMix Kit е установена с приложимите QIAGEN анализи надолу по веригата. Моля, направете справка със съответните инструкции за употреба на съответното приложение на QIAGEN надолу по веригата за подробни инструкции относно боравенето с този продукт в рамките на съответната работна процедура.

Потребителят носи отговорността да валидира ефективността за всички анализи в неговата лаборатория, които не са включени в проучвания на работните характеристики на QIAGEN. Трябва да се използват адекватни контроли за по-нататъшните приложения, за да се сведе до минимум рискът от отрицателно отражение върху диагностичните резултати. За допълнително валидиране се препоръчва да се използват указанията на *International Conference on Harmonization of Technical Requirements* (Международната конференция за хармонизиране на техническите изисквания) – ICH – в *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology* (Валидиране на аналитични процедури: текст и методика).

Наборът QIAcuityDx Universal MasterMix Kit не се произвежда при стерилни производствени процедури, поради което може да съдържа други съставки, които биха могли да повлияят на измерването. Приложенията надолу по веригата трябва да включват подходящи контроли, ако това увеличава риска от отрицателно въздействие върху диагностичния резултат.

## Отстраняване на проблеми

Този раздел предоставя информация какво да правите в случай на проблеми с използването на набора QIAcuityDx Universal MasterMix Kit. Ако е необходимо допълнително съдействие, свържете се с отдела за техническо обслужване на QIAGEN, като използвате информацията за контакт по-долу, която ще ви насочи към конкретни данни за контакт:

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

## Проблем

## Коментари и предложения

### NTC амплификация

Конфигурация на анализа	Конфигурирайте повторно праймерите/сондите. Оптимизирайте условията на анализа чрез промяна на концентрацията на праймерната проба и концентрацията на MgCl <sub>2</sub> .
Замърсяване в реактивите	Изхвърлете реактивите, повторете анализа с използване на нови реактиви.
Замърсяване при подготовката на анализа	Вземете предпазни мерки срещу замърсяване чрез обеззаразяване на работната зона с подходящи почистващи материали.

### Няма амплификация

Условията на PCR не са оптимизирани	Увеличете началното време за денатуриране. Увеличете времето за топлинна обработка/удължаване.
Недостатъчен изходен еталон	Увеличете количеството/концентрацията на изходния еталон, добавен към основната смес за анализ.

### Флаг за насищане

Пренасищане на сонди	Намалете времето на експозиция в параметрите за изобразяване. Намалете усилването в параметрите за изобразяване.
----------------------	---

### Недостатъчно разделение между положителни и отрицателни клъстери

Конфигурация на анализа	Оптимизирайте условията на анализа чрез промяна на концентрацията на праймерната проба и концентрацията на MgCl <sub>2</sub> . Преминете към двойно угасени сонди TaqMan, за да увеличите съотношението сигнал/шум.
Условията на PCR не са оптимизирани	Увеличете началното време за денатуриране. Увеличете времето за топлинна обработка/удължаване.

### Наблюдавани разлики в абсолютните стойности на количествено определяне в различните серии

Недостатъчно добавена QIAcuityDx Universal MasterMix	Уверете се, че крайната концентрация на QIAcuityDx Universal MasterMix в подсместа е 1x (от 4x изходния разтвор).
--	---

## Проблем

## Коментари и предложения

Промяна във времето за размразяване/подготовка

Удълженото време за размразяване/подготовка може да повлияе отрицателно на абсолютните стойности на количествено определяне. За оптимална ефективност реактивите трябва да се размразят за максимум 30 минути и след като подсместа (основна смес за анализ + еталон) бъде приготвена, тя трябва незабавно да се зареди върху наноплаката. Ако са необходими удължени времена за размразяване/подготовка, те трябва да бъдат със защитна лента за всеки анализ, за да се гарантира, че промените в абсолютното количествено определяне не влияят на крайните резултати.

Условията на PCR не са оптимизирани

Оптимизирайте температурата на денатуриране.  
Оптимизирайте температурата на топлинна обработка/удължаване.

### Несъвместими резултати в различните ямки на наноплаките

Условията на PCR не са оптимизирани

Оптимизирайте времето за активиране, като увеличите от 2 минути на 15 минути.

# Информация за поръчка

Изделие	Съдържание	Кат. №
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (1 mL)	За подготовка на до четири наноплаки QIAcuityDx: 1 x QIAcuityDx Universal MasterMix, 1 x MgCl <sub>2</sub> , 200 mM, 2 x вода без РНКаза	260101
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (5 mL)	За подготовка на до двадесет наноплаки QIAcuityDx: 5 x QIAcuityDx Universal MasterMix, 2 x MgCl <sub>2</sub> , 200 mM, 5 x вода без РНКаза	260102

При боравене с продуктите трябва да се полагат необходимите грижи и внимание. Препоръчваме на всички потребители на продукти QIAGEN® да следват всички приложими местни разпоредби и също така препоръчваме да следват всички приложими стандарти и насоки.

# Хронология на редакциите на документа

Дата

Промени

R1, юли 2024 г.

Първо издание

## Ограничено лицензионно споразумение за набор QIAcuityDx® Universal MasterMix Kit

Употребата на това изделие означава, че всеки купувач или потребител на изделието приема следните условия:

1. Продуктът може да се използва само по протоколите, предоставени с продукта и тези Инструкции за употреба, и само с компонентите, съдържащи се в набора. QIAGEN не предоставя лиценз по никакви права върху своята интелектуална собственост за употребата или включването на приложените компоненти на този набор с компоненти, които не са включени в този набор, освен както е описано в протоколите, предоставени с продукта, тези Инструкции за употреба и допълнителните протоколи, които могат да се изтеглят от адрес [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Някои от тези допълнителни протоколи са предоставени от потребители на QIAGEN за потребители на QIAGEN. Тези протоколи не са тествани щателно или оптимизирани от QIAGEN. QIAGEN не дава гаранция за тях и не гарантира, че те не нарушават правата на трети страни.
2. Освен изрично посочените лицензи QIAGEN не дава гаранция, че този набор и/или неговата употреба не нарушават правата на трети страни.
3. Този набор и неговите компоненти са лицензирани за еднократна употреба и не могат да се използват повторно, обновяват или препродават.
4. QIAGEN изрично се освобождава от отговорност за всякакви други лицензи – явни или подразбиращи се – освен изрично посочените.
5. Купувачът и потребителят на набора се съгласяват да не предприемат и да не позволяват на други лица да предприемат стъпки, които могат да улеснят или да доведат до някое от действията, забранени по-горе. QIAGEN може да прилага забраните в настоящото Ограничено лицензно споразумение във всеки съд и ще възстанови всички свои разходи за разследване и съдебни разноски, включително адвокатските хонорари, при всяко действие за прилагане на настоящото Ограничено лицензно споразумение или упражняване на всяко от своите права върху интелектуална собственост във връзка с набора и/или неговите компоненти.

За актуалните условия на лиценза вижте [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Търговски марки: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAcuityDx®, QuantiNova® (QIAGEN Group); Cy® (GE Healthcare); Taqman® (Roche Molecular Systems, Inc.); FAM™, HEX™, ROX™, TAMRA™, (Thermo Fisher Scientific или техни филиали). Регистрираните имена, търговските марки и пр., използвани в настоящия документ, дори ако не са изрично обозначени като такива, не се считат за незащитени от закона.

07/2024 HB-3592-001 ©2024 QIAGEN, всички права запазени.



Тази страница умишлено е оставена празна.

Тази страница умишлено е оставена празна.

Тази страница умишлено е оставена празна.

