

EZ1[®] DSP Virus Kit 사용 지침(안내서)



48

버전 5



체외 진단용

BioRobot[®] EZ1 DSP, EZ1 Advanced 및 EZ1 Advanced XL 기기와
함께 사용

EZ2[®] Connect MDx 기기와 함께 사용(소프트웨어 버전 1.1 이상)



62724



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 독일



1129846KO

목차

용도.....	4
대상 사용자.....	4
설명 및 원리.....	5
요약 및 설명.....	6
제공되는 재료.....	8
키트 내용물.....	8
키트 구성품.....	9
필요하지만 제공되지 않는 재료.....	10
경고 및 예방조치.....	12
안전성 정보.....	12
예방조치.....	13
긴급상황 정보.....	14
처분.....	14
시약 보관 및 취급.....	15
사용 중 안정성.....	16
시료 보관 및 취급.....	17
혈장 및 혈청 검체.....	17
대변 검체.....	18
UTM 에서 채취한 비인두 도말.....	19
뇌척수액(Cerebrospinal Fluid, CSF) 검체.....	19
그람 양성 박테리아 검체.....	19
용출량 및 용출물 취급.....	19

바이러스 핵산/박테리아 DNA 보관.....	20
절차.....	21
EZ2 Connect MDx 기기에서 작업	21
EZ1 기기로 작업.....	28
운반체 RNA(CARRIER) 준비.....	35
내부 대조물질(Internal Control, IC) 사용	36
프로토콜: 대변 전처리	37
프로토콜: 그람 양성 박테리아의 유전체 DNA 분리를 위한 전처리.....	39
프로토콜: EZ2 Connect MDx 를 사용한 바이러스 핵산 및 박테리아 DNA 정제.....	40
프로토콜: EZ1 기기를 사용한 바이러스 핵산 및 박테리아 DNA 정제	48
품질 관리	54
제한 사항	55
성능 특징	56
문제 해결 가이드	57
기호.....	61
연락처 정보.....	65
부록 A: EZ1/EZ2 기기의 디스플레이 메시지	66
부록 B: 내부 대조물질(Internal Control, IC) 양 계산.....	92
부록 C: EZ1 DSP Virus 시스템에 사용하는 검체 시트	96
주문 정보	98
문서 개정 이력.....	100

용도

EZ1 DSP Virus Kit 는 생물학적 시료에서 바이러스 핵산 및 박테리아 DNA 를 자동 분리 및 정제하는 데 자성 입자 기술을 사용합니다.

EZ1 DSP Virus Kit 는 체외 진단용입니다.

대상 사용자

이 제품은 분자생물학 기법을 교육을 받은 기술자 및 의사와 같은 전문 사용자가 사용해야 합니다.

설명 및 원리

자성 입자 기술은 실리카 기반 핵산 정제의 속도 및 효율과 자성 입자의 편리한 취급의 이점을 결합했습니다. 정제 절차는 잠재적 감염성 검체를 안전하고 재현 가능하게 취급할 수 있도록 설계하였습니다. 정제 절차는 용해, 결합, 세척, 용출의 4 단계로 구성되어 있습니다(이후 섹션 및 7 페이지의 순서도 참조). 대변 검체 전처리는 필수 사항입니다. 각 검체 물질에 대한 전처리 프로토콜을 참조하십시오.

단백질 가수분해효소 K 를 이용한 용해

검체의 단백질 가수분해는 고온에서 고도의 변성 조건 하에서 이루어집니다. 용해는 단백질 가수분해효소 K 및 용해 완충액이 있는 상태에서 이루어지며, 이 둘은 바이러스 피막 단백질 소화 및 핵산분해효소 비활성화가 이루어지도록 합니다.

자성 입자에 결합

결합 조건을 조정하기 위해 결합 완충액을 용해된 검체에 첨가합니다. 바이러스 핵산과 박테리아 DNA 가 실리카 표면에 최적으로 흡착할 수 있도록 용해물을 자성 입자와 완전히 혼합합니다. 염 및 pH 조건은 PCR 및 그 밖의 후속적 효소 반응을 억제할 수 있는 단백질 및 기타 오염 물질이 자성 입자에 결합되지 않도록 합니다.

결합된 핵산 세척

바이러스 핵산 및 박테리아 DNA 가 자성 입자에 결합된 상태에서 오염 물질은 3 가지의 세척 단계 후 헹굼 및 자연 건조 단계의 순서 중에 효율적으로 세척됩니다.

순수 핵산의 용출

단일 단계를 통해 고순도의 바이러스 핵산 및 박테리아 DNA 가 용출 완충액(AVE)에 용출됩니다. 정제된 핵산은 즉시 다운스트림 공정에 사용되거나 향후 사용을 위해 보관될 수 있습니다.

요약 및 설명

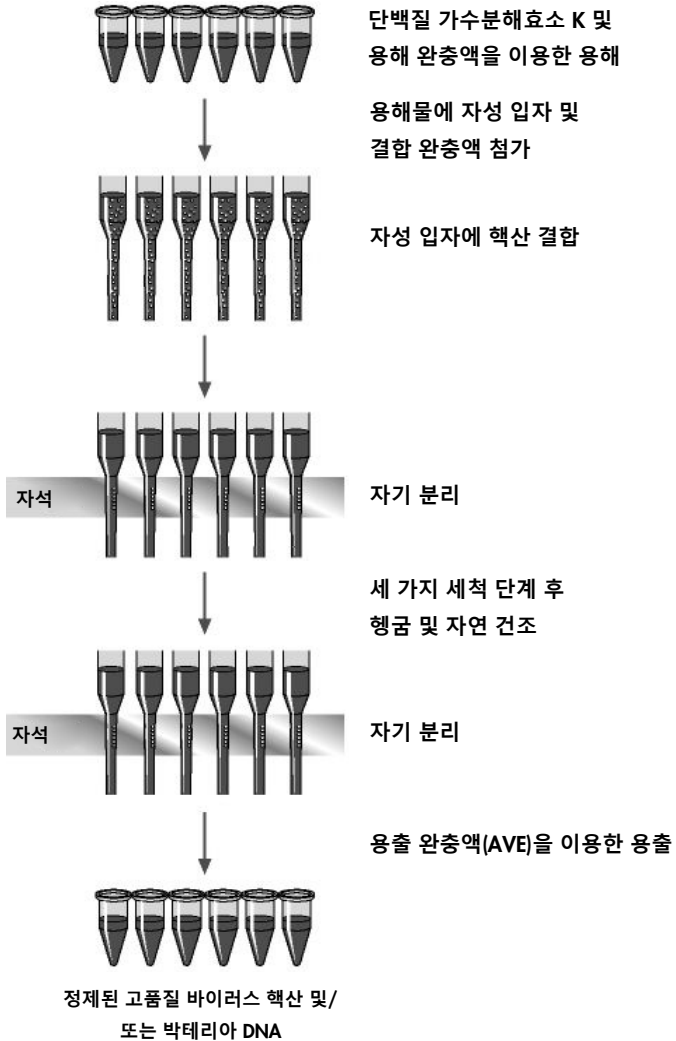
EZ1 DSP Virus Kit 는 EZ1 또는 EZ2 Connect MDx 기기를 사용하여 다음 검체 물질로부터 바이러스 핵산 및 박테리아 DNA 를 동시에 정제하는 자동화 절차를 제공합니다.

- 혈청 및 혈장
- 뇌척수액(Cerebrospinal fluid, CSF)
- 대변
- UTM 에서 채취한 비인두 도말

이 키트는 박테리아에서 DNA 뿐만 아니라 광범위한 DNA 및 RNA 바이러스에서 핵산을 정제하는 데 사용할 수 있습니다. 그러나, 키트 성능은 모든 검체 물질에서 추출한 각 병원체 종에 대해 보장되지 않으며, 반드시 사용자가 검증해야 합니다. 자성 입자 기술은 단백질, 핵산분해효소 및 기타 불순물이 없는 고품질 핵산을 정제할 수 있습니다. 정제된 핵산은 증폭 등 다운스트림 분석에서 고감도 검출에 즉시 사용 가능합니다. EZ1(EZ1 Advanced, BioRobot EZ1 DSP, EZ1 Advanced XL) 및 EZ2 Connect MDx 기기는 한 번의 실행에서 최대 6 개 검체(EZ1 Advanced 또는 BioRobot EZ1 DSP 사용; 둘 다 생산 중단), 최대 14 개 검체(EZ1 Advanced XL 사용) 또는 최대 24 개 검체(EZ2 Connect MDx 사용)에 대해 모든 검체 준비 절차 단계를 수행합니다.

EZ1 DSP Virus 절차

혈청, 혈장, CSF, 대변, UTM 에서 채취한 비인두 도말



제공되는 재료

키트 내용물

EZ1 DSP Virus Kit


(48)

카탈로그 번호

62724

준비 수

48

RCV	Reagent Cartridge(시약 카트리지), 바이러스 350 μ L*†	REAG CART VIRUS	48
DTH	Disposable Tip Holders(일회용 팁 홀더)	DISP TIP HOLD	50
DFT	Disposable Filter-Tips(일회용 필터 팁)	DISP FILT TIP	50
ST	Sample Tubes(검체 튜브)(2mL), 스커트 없음	SAMP TUBE	2 x 50
ET	Elution Tubes(용출 튜브)(1.5ml)	ELU TUBE	2 x 50
CARRIER	Carrier RNA (운반체 RNA)	CAR RNA	310 μ g
AVE	Elution Buffer†(용출 완충액)	ELU BUF	3 x 2 mL
	Q-카드‡		1
	사용 지침		1

* 구아닌딘염을 포함합니다. 표백제를 포함하는 소독제와 같이 사용할 수 없습니다. 안전성 정보는 12 페이지를 참조하십시오.

† 방부제 역할을 하는 아지드화 나트륨을 함유하고 있습니다.

‡ Q-카드의 바코드에 코드화된 정보는 EZ1 Advanced, EZ1 Advanced XL, EZ2 Connect MDx 기기를 사용한 시약 데이터 추적에 필요합니다.

키트 구성품

아래는 활성 성분을 포함하는 키트의 주요 구성품에 대한 설명입니다.

표 1. 활성 성분이 포함된 공급 시약

시약	구성품	농도(w/w)[%]
RCV 시약 카트리지 바이러스)	에탄올	≥70~<90
	이소프로판올	≥70~<90
	구아니디늄 티오시아네이트	≥30~<50
	염산 구아니딘	≥30~<50
	단백질 가수분해효소 K	≥1~<10
	염화 리튬	≥1~<10

필요하지만 제공되지 않는 재료

화학물질로 작업할 때 항상 적합한 실험용 가운, 일회용 장갑 및 보안경을 착용합니다. 자세한 정보는 제품 공급업체에서 구할 수 있는 적절한 안전보건자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하십시오.

모든 프로토콜

- 피펫 * 및 RNase 가 없는 멸균 피펫 팁
- 반응 튜브(특정 검체 유형에 한함)
- 부드러운 종이 티슈
- 물
- 70% 에탄올(청소 절차용)
- 선택사항: 볼텍서*(검체를 혼합해야 하는 경우)
- 최적: 마이크로 원심분리기*(자성 입자를 용출물에서 제거해야 하는 경우)

대변 전처리

- Buffer AS1(카탈로그 번호 19082)
- 교반기
- Thermo-shaker* 또는 70°C 수조*

그람 양성 박테리아의 유전체 DNA 분리

- 리소자임, Tris-HCl, EDTA, Triton X-100
- Thermo-shaker* 또는 37°C 수조*
- 원심분리기(5000 x g 수행 가능)

* 제조업체의 권장사항에 따라 기기를 정기적으로 점검, 유지관리, 캘리브레이션했음을 확인하십시오.

BioRobot EZ1 사용자

- BioRobot EZ1 DSP 기기 * (생산 중단)
- EZ1 DSP Virus Card(카탈로그 번호 9017707)

EZ1 Advanced 사용자

- EZ1 Advanced 기기*(생산 중단)
- EZ1 Advanced DSP Virus Card(카탈로그 번호 9018306)

EZ1 Advanced XL 사용자

- EZ1 Advanced XL 기기*(카탈로그 번호 9001492)
- EZ1 Advanced XL DSP Virus Card(카탈로그 번호 9018703)

EZ1 Advanced 및 EZ1 Advanced XL 사용자

- 검체 추적의 경우, 다음 중 하나가 필요합니다.
 - PC(모니터 포함) 및 EZ1 Advanced Communicator 소프트웨어(EZ1 Advanced 및 EZ1 Advanced XL 기기와 함께 제공되는 소프트웨어)
 - 프린터
 - 추가 세부사항은 각 기기 안내서를 참조하십시오

EZ2 Connect MDx 사용자

- EZ2 Connect MDx 기기 *(카탈로그 번호 9003230)

* 제조업체의 권장사항에 따라 기기를 정기적으로 점검, 유지관리, 캘리브레이션했음을 확인하십시오.

* 제조업체의 권장사항에 따라 기기를 정기적으로 점검, 유지관리, 캘리브레이션했음을 확인하십시오.

경고 및 예방조치

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

체외 진단용입니다.


키트를 사용하기 전에 모든 지침을 주의 깊게 읽으십시오.

다음과 같은 나머지 위험에 유의하십시오.

- 이차 튜브(검체 튜브, "ST")를 사용하는 동안, 일차에서 이차 튜브로 검체 ID 를 옮길 때 검체 ID 가 섞이지 않도록 하십시오.
- 검체 ID 는 수동으로도 입력할 수 있습니다(세부사항은 EZ1 또는 EZ2 기기 사용자 설명서 참조). 수동으로 잘못된 ID 데이터를 입력하는 경우 검체와 환자 간 잘못된 상관관계가 발생할 수 있습니다.

안전성 정보

화학물질로 작업할 때 항상 적합한 실험용 가운, 일회용 장갑 및 보안경을 착용합니다. 자세한 정보는 관련 안전보건자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하십시오. 안전보건자료는 www.qiagen.com/safety 에서 온라인 PDF 형식으로 사용할 수 있으며, 여기에서 각 QIAGEN® 키트 및 키트 구성품에 대한 SDS 를 찾아서 보고 인쇄할 수 있습니다.

	<p>경고 신체 상해의 위험</p> <p>검체 준비 과정의 폐기물에 표백제나 산성용액을 직접 가지 마십시오.</p>
---	---

- 시약 카트리리지(RCV)의 일부 완충액에는 염산 구아니딘 또는 구아니딘 이소티오시아네이트가 들어 있으며, 이는 표백제와 함께 사용하면 반응성 높은 화합물을 형성할 수 있습니다.

- 이런 완충액이 들어 있는 액체를 흘린 경우, 적절한 실험실 세제 및 물로 청소하십시오. 잠재적 감염성 물질을 함유한 액체를 EZ1/EZ2 기기에 흘리는 경우, EZ1/EZ2 기기와 함께 제공된 사용자 설명서에 기술된 시약을 사용하여 기기를 소독하십시오.
- 파손되거나 누출되는 시약 카트리리지(RCV)는 현지 안전 규정에 따라 처리 및 폐기해야 합니다. 손상된 시약 카트리리지(RCV) 또는 기타 손상된 키트 구성품을 사용하면 저조한 키트 성능, 사용자 부상 또는 기기 손상을 유발할 수 있으므로 이를 사용하지 마십시오.
- QIAGEN 은 EZ1 DSP Virus 절차에 따라 생성된 액체 폐기물에 대해 잔여 오염성 물질의 존재 여부를 시험한 바가 없습니다. 잔류 감염성 물질로 인한 액체 폐기물의 오염은 가능성이 낮지만 완전히 배제할 수는 없습니다. 따라서 잔여 액체 폐기물은 감염성으로 간주하고, 지역 안전 규정에 따라 취급 및 폐기해야 합니다.
- 시료 및 검체는 잠재적 감염성 물질입니다. 검체 및 분석항목 폐기물은 현지 안전 절차에 따라 폐기하십시오.

예방조치

다음의 위험 및 예방조치 관련 진술은 EZ1 DSP Virus Kit 의 구성요소에 적용됩니다.

Reagent Cartridge, Virus Mini, v2.0 CE (RCV)



내용물: 에탄올, 염산 구아니딘, 구아니딘 티오시아네이트, 이소프로판올, 염화 리튬, 단백질 가수분해효소 K. 위험! 고인화성 액체 및 증기입니다. 삼키거나 흡입하는 경우 유해합니다. 피부 접촉 시 유해할 수 있습니다. 심각한 피부 화상 및 눈 손상을 야기합니다. 흡입 시 알레르기나 천식 증상 또는 호흡 곤란을 야기할 수 있습니다. 호흡기 자극을 초래할 수 있습니다. 졸음이나 어지러움을 유발할 수 있습니다. 수생 생물에게 장기적으로 지속되는 영향을 미치며 해로울 수 있습니다. 산과 접촉 시 독성 가스를 방출합니다. 열/스파크/노출 화염/뜨거운 표면에 가까이 두지 마십시오. 흡연 금지. 먼지/연기/가스/분무/증기/비말을 흡입하지 않도록 합니다. 보호용 장갑/보호복/보안경/얼굴 보호대를 착용하십시오. 호흡기 보호구를 착용합니다. 눈에 묻은 경우: 물로 몇 분 동안 주의하여 씻어냅니다. 콘택트 렌즈를 끼고 있으며 쉽게 뺄 수 있는 경우 빼냅니다. 계속 씻어냅니다. 노출 또는 우려 시: 즉시 중독 센터 또는 의사에게 연락하십시오. 신선한 공기가 있는 곳으로 사람을 옮기고 편히 호흡할 수 있는 상태를 유지하십시오. 재사용 전에 오염된 옷을 세척하십시오. 잘 환기되는 곳에 보관합니다. 내용물/용기를 승인된 폐기물 처리 시설에 폐기하십시오.

긴급상황 정보

CHEMTREC

미국 및 캐나다 1-800-424-9300

미국 및 캐나다 외 +1 703-527-3887

처분

폐기물에는 검체와 시약이 포함됩니다. 이 폐기물은 독성 또는 감염성 물질을 함유할 수 있으며 적절하게 폐기해야 합니다.

현지 및 국가 규정에 따라 유해 폐기물로 폐기하십시오. 이는 사용하지 않은 제품에도 적용됩니다.

하수관에 액체 폐기물을 폐기하지 마십시오.

안전보건자료(Safety Data Sheet, SDS)의 권고사항을 따르십시오.

적절한 폐기 절차는 현지 안전 규정을 참조하십시오. 12 페이지부터 시작되는 “경고 및 예방조치” 섹션을 참조하십시오.

자세한 정보는 관련 안전보건자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하십시오. 안전보건자료는 www.qiagen.com/safety 에서 온라인 PDF 형식으로 사용할 수 있으며 여기에서 각 QIAGEN 키트 및 키트 구성품에 대한 SDS 를 찾아서 보고 인쇄할 수 있습니다.

시약 보관 및 취급

시약 카트리지(RCV)를 똑바로 세워 실온(15~25°C)에 보관하십시오. 시약 카트리지(RCV)의 자성 입자는 이 온도에서 보관할 때 활성을 유지합니다. 시약 카트리지(RCV)를 동결하지 마십시오. 적절히 보관하는 경우, 시약 카트리지(RCV)는 Q-카드, 키트 상자 및 RCV 의 바코드의 유효 기한까지 안정적입니다.

동결 건조된 운반체 RNA(CARRIER)는 실온에 보관하는 경우 키트 상자의 유효 기간까지 안정적입니다.

실온에서 보관하는 동안 전처리 완충액 ASL 에서 침전물이 형성될 수 있습니다. 병을 15~20 분 동안 50~56°C 에서 배양하고 이 배양 기간 내에 병을 수동으로 두 번 흔드십시오.

- ❶ EZ1 DSP Virus Kit 또는 Buffer ASL 의 기한이 만료되었으면 사용하지 마십시오. RCV 또는 Buffer ASL 이 UV 빛(예:오염 제거에 사용)에 노출되면 완충액의 유효 기간 단축이 가속될 수 있으므로 노출을 피하십시오.
- ❷ 손상되거나 이미 열린 경우 시약 카트리지(RCV)를 사용하지 마십시오.
- ❸ 시약 카트리지의 포장지를 제거하지 마십시오. 기기에서 자동으로 포장지를 뚫을 것입니다.

사용 중 안정성

시약 카트리지(RCV)는 일회용이며 사용 중 안정성을 제공하지 않습니다.

재구성된 운반체 RNA(CARRIER) 저장 용액의 농도는 1ng/μl 이며, 2~8°C 에서 보관하는 경우 최대 4 주까지 안정적입니다.

전처리 완충액 ASL 은 다시 닫아 실온에서 보관하는 경우(15~25°C) 병의 첫 개봉/사용 후 최대 6 개월까지 안정적입니다.

- ① 사용 중 안정성을 초과하지 않도록 완충액 병 ASL 의 첫 개봉/사용 날짜를 병에 기록하는 것이 좋습니다.
- ① 남은 키트 보관 기간이 6 개월 미만인 경우, 완충액 ASL 은 유효 기간 후에 사용해서는 안 됩니다.

시료 보관 및 취급

전처리 절차 및 다음 준비 과정 동안 검체를 적절히 처리하여 검체가 섞이지 않도록 해야 합니다.

정제 절차는 100, 200 또는 400 μ l 검체 용량에 사용하도록 최적화되었습니다.

- ① 성능 문제를 유발하거나 기기를 손상시킬 수 있으므로 100, 200 또는 400 μ l 외 더 낮거나 더 높은 검체 용량을 사용하지 마십시오.

검체 안정성은 다양한 인자에 따라 달라지며, 특정 다운스트림 공정과 관련이 있습니다. 검체 안정성은 예시 다운스트림 공정으로 EZ1 DSP Virus Kit에 대해 확립되었습니다. 사용자는 실험실에서 사용하는 특정 다운스트림 공정의 사용 지침을 참조하고/하거나 적절한 보관 조건을 확립하기 위해 전체 작업 흐름을 검증할 책임이 있습니다.

- ① 일반적인 수집, 운송, 보관 권장사항은 승인된 CLSI 가이드라인 MM13-A “분자 분석법 시료의 수집, 운송, 준비 및 보관”을 참조하십시오. 또한, 검체 준비, 보관, 운송, 일반 취급 중에는 사용한 검체 수집 장치/키트에 대한 제조업체의 지침을 따라야 합니다.

혈장 및 혈청 검체

혈액 채취 시 사용하는 각 혈액 채집 튜브(Blood Collection Tube, BCT)의 제조업체 지침을 따르십시오. 특히 채혈 과정 중 BCT의 올바른 위치에 대한 지침, 필수 충전 용량, 채혈 후 가벼운 BCT 혼합 및 뒤집기에 대한 지침을 고려해야 합니다.

참고: 잘못 및/또는 충분하지 않게 혈액 검체가 혼합되는 경우는 가장 중요한 검사 전 변수 중 하나가 될 수 있습니다. 혈액 채집 튜브의 첨가물이 시료와 균일하게 혼합되는 경우를 제외하고 바이러스 NA 품질이 저하될 수 있으며, 이는 검사 결과의 유효성 및 신뢰성에 영향을 줄 수 있습니다.

EDTA 또는 구연산염을 항응고제로 하여 처리한 혈액 검체는 혈장 준비에 사용할 수 있습니다. 혈장 및 혈청 검체는 신선한 상태이거나 해동 후 다시 냉동되지 않았다면 냉동된 상태일 수 있습니다.

바이러스 NA 검사 시 운송 직후(상온에서 최대 2 시간) 원심분리하여 혈액 검체의 혈장 준비를 시작하는 것이 좋습니다. 지연되는 경우, EDTA 및 구연산염 혈액 채집 튜브를 원심분리 및 혈장 준비 시까지 최대 6 시간 동안 4°C 에 보관할 수 있습니다. 혈청 검체는 원심분리 시까지 최대 2 시간 동안 상온 조건에서 보관해야 합니다. 보관 조건 및 기간은 기록해야 합니다.

더 긴 기간 동안 보관하는 경우 혈장 및 혈청 준비 후 검체 분주를 -20°C~-80°C 에서 보관하는 것이 좋습니다. 동결된 검체 분주는 30~90 분에 걸쳐 25°C 에서 해동하십시오. 검체가 실온이 되는 즉시 검체 튜브를 최소 10 회 뒤집고 검체를 처리하십시오. 분주물을 해동한 후에는 재동결하지 마십시오. 반복적인 동결-해동은 단백질의 변성과 침전을 유도하여 바이러스 및 박테리아 역가를 감소시키므로 바이러스 핵산 및 박테리아 DNA 의 수율을 떨어뜨립니다. 검체에 동결침전제제가 보이는 경우, 3 분 ± 30 초 동안 6800 x g 에서 원심분리하고, 펠렛을 건드리지 않으면서 새로운 튜브에 상층액을 옮긴 후 즉시 정제 절차를 시작하십시오. 이 단계는 바이러스 역가를 낮추지 않지만 박테리아 역가가 영향을 받을 수 있습니다.

대변 검체

채취 후 대변 검체를 2~8°C 에서 보관 및 운송하십시오. 대변에서 바이러스 또는 박테리아 핵산을 추출하는 데 200µl 의 검체 용량이 권장됩니다. E21 또는 E22 기기에서 추출하기 전에 전처리를 수행해야 합니다(37 페이지의 “프로토콜: 대변 전처리” 참조).

일반적인 수집, 운송, 보관 권장사항은 승인된 CLSI 가이드라인 MM13-A “분자 분석법 시료의 수집, 운송, 준비 및 보관”을 참조하십시오.

UTM 에서 채취한 비인두 도말

UTM 에서 채취한 비인두 도말은 실온에서 운송할 수 있습니다.

일반적인 수집, 운송, 보관 권장사항은 승인된 CLSI 가이드라인 MM13-A “분자 분석법 시료의 수집, 운송, 준비 및 보관”을 참조하십시오.

뇌척수액(Cerebrospinal Fluid, CSF) 검체

DNA 연구 시 CSF 검체는 2~8°C 에서 운송해야 합니다. RNA 연구 시 CSF 검체는 드라이아이스에 동결된 상태로 운송해야 합니다.

일반적인 수집, 운송, 보관 권장사항은 승인된 CLSI 가이드라인 MM13-A “분자 분석법 시료의 수집, 운송, 준비 및 보관”을 참조하십시오.

그람 양성 박테리아 검체

용해가 어려운 그람 양성 박테리아의 DNA 추출 시 EZ1 또는 EZ2 Connect MDx 기기에서 추출하기 전에 리소자임 소화로 구성된 추가 용해 전 단계를 수행할 수 있습니다(39 페이지, “프로토콜: 그람 양성 박테리아의 유전체 DNA 분리를 위한 전처리” 참조).

용출량 및 용출물 취급

정제 절차의 마지막 단계는 바이러스 핵산 및 박테리아 DNA 를 60, 90, 120 또는 150µl 의 최종 용량으로 용출하는 것입니다.

검체 물질이 대변인 경우, 120~150µl 의 용출량을 선택하는 것이 좋습니다.

대변에서 얻은 용출물이 탁한 경우, 최대 속도(20,000 x g)로 3 분 동안 원심분리하여 맑은 용출물을 얻으십시오. 이 처리는 다운스트림 공정에서 탁한 용출물의 성과를 개선합니다.

바이러스 핵산/박테리아 DNA 보관

최대 24 시간의 단기 보관 시 정제된 바이러스 핵산 또는 박테리아 DNA 를 2~8°C 에서 보관하는 것이 좋습니다. 24 시간을 초과하는 장기 보관 시 최대 12 개월 동안 -80°C 또는 최대 12 주 동안 -20°C 에서 보관하는 것이 좋습니다. 핵산의 안정성은 사용하는 특정 다운스트림 공정에 대해 달라질 수 있으며 사용자가 직접 검증해야 합니다.

용출물 안정성은 다양한 인자에 따라 달라지며, 특정 다운스트림 공정과 관련이 있습니다. 검체 안정성은 예시 다운스트림 공정으로 EZ1 DSP DNA Virus Kit 에 대해 확립되었습니다. 사용자는 실험실에서 사용하는 특정 다운스트림 공정의 사용 지침을 참조하고/하거나 적절한 보관 조건을 확립하기 위해 전체 작업 흐름을 검증할 책임이 있습니다.

절차

EZ1 DSP Virus Kit 는 여러 유형의 기기에서 사용할 수 있습니다.

- EZ2 Connect MDx
- EZ1 Advanced XL 및 EZ1 Advanced(생산 중단)
- BioRobot EZ1 DSP(생산 중단)

EZ2 Connect MDx 기기에서 작업

EZ2 Connect MDx 기기의 주요 기능은 다음과 같습니다.

- 실행당 1~24 개의 검체에서 고품질 핵산 자동 정제
- 사전 설치된 즉시 사용 가능한 프로토콜
- 쉽고 안전하고 빠른 설정을 위한 사전 충전 밀봉 시약 카트리리지
- 검체 ID 및 키트 ID 판독에 사용되는 외부 바코드 판독기(Q-카드)
- 그래픽 사용자 인터페이스(Graphical user interface, GUI)
- 자동화 로드 확인 및 시약 카트리리지 바코드 판독에 사용되는 내부 카메라
- 작업대 표면의 오염 제거를 지원하는 UV 램프

EZ2 Connect MDx 의 추가 기능은 다음과 같습니다.

- LIMS 및 QIASphere 연결성(LAN 또는 WiFi 또는 USB 포트)
- 사용자 관리 확장

i UV 오염 제거는 EZ2 Connect MDx 작업대 표면의 가능한 병원체 오염을 줄이는 데 도움이 됩니다. 비활성화의 효율은 각 특정 유기체에 대해 결정되어야 하며, 예를 들어 층 두께 및 검체 유형에 따라 다릅니다. QIAGEN에서는 특정 병원체에 대한 완전한 박멸을 보장할 수 없습니다.

EZ2 Connect MDx 운영 절차

진행하기 전에 EZ2 Connect MDx 사용자 설명서(www.qiagen.com의 제품 페이지 리소스 탭에서 확인할 수 있음)에 설명된 기기의 기능을 숙지하는 것이 좋습니다.

- 기기를 작동하는 동안 EZ2 Connect MDx의 후드는 닫힌 상태여야 하며 자동으로 잠깁니다. 사용 지침상 열어야 하는 경우에만 후드를 여십시오. EZ2 Connect MDx 기기의 작업대는 기기를 작동하는 동안 움직입니다. 기기가 작동 중일 때 EZ2 Connect MDx 후드를 절대 열지 마십시오.

프로토콜 실행을 설정하려면 후드를 닫고 기기 스위치를 켜십시오. MDx 사용 시 로그인할 때 IVD 모드를 선택하십시오. 홈 화면에서 Setup(설정) 탭을 누르고 Scan(스캔) 버튼을 눌러 EZ1 DSP Virus kit(그림 1)와 함께 제공된 Q-카드의 1D 바코드를 스캔하십시오. Q-카드가 스캔되면 전용 프로토콜이 자동으로 표시됩니다.

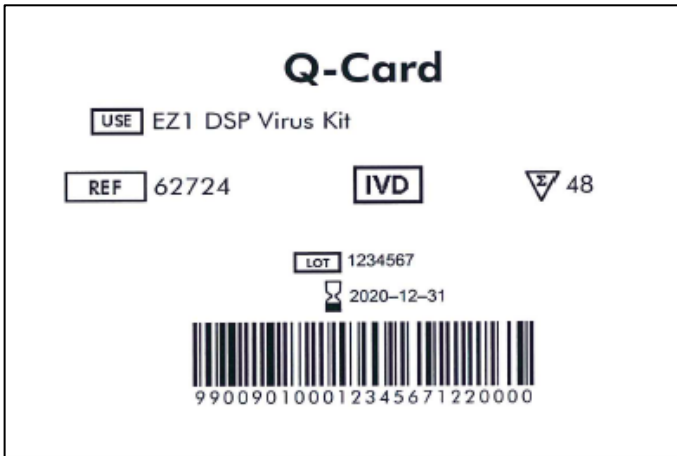


그림 1. Q-카드 예시.

EZ2 Connect MDx 소프트웨어는 프로토콜 실행 설정 과정을 안내합니다.

시약 카트리지(RCV)

단일 검체에서 핵산을 정제하기 위한 시약은 단일 시약 카트리지(RCV)에 들어 있습니다(그림 2). 카트리지(RCV)의 웰 대부분에는 자성 입자, 용해 완충액, 세척 완충액 또는 RNase 가 없는 용출 완충액(AVE) 등 특정 시약이 포함됩니다. 각 웰에는 필수 양의 시약만 포함되어 있으므로 정제 절차 종료 시 잔여 시약으로 인한 추가 폐기물이 발생하는 일이 방지됩니다.

EZ1 DSP Virus Kit 와 함께 공급된 시약 카트리지(RCV)는 운반체 RNA(CARRIER)를 제외한 바이러스 핵산 및 박테리아 DNA 정제에 필요한 모든 시약으로 사전 충전되어 있습니다. 운반체 RNA(CARRIER) 및 내부 대조물질(internal control, IC)(선택 사항)은 시약 카트리지(RCV) 외부의 튜브에 첨가됩니다.



그림 2. 시약 카트리지(RCV), EZ1 DSP Virus Kit 의 밀봉된 사전 충전 시약 카트리지(RCV).



그림 3. 시약 카트리지 랙. 카트리지 랙 자체에 시약 카트리지(RCV)가 로드되어야 하는 방향을 표시하는 화살표가 부착되어 있습니다.

작업대

EZ2 Connect MDx 기기의 작업대는 사용자가 검체 및 EZ1 DSP Virus Kit 의 구성품을 로드하는 곳입니다(그림 4 및 그림 5).

작업대 설정에 대한 세부사항은 터치스크린 GUI 에 표시됩니다.

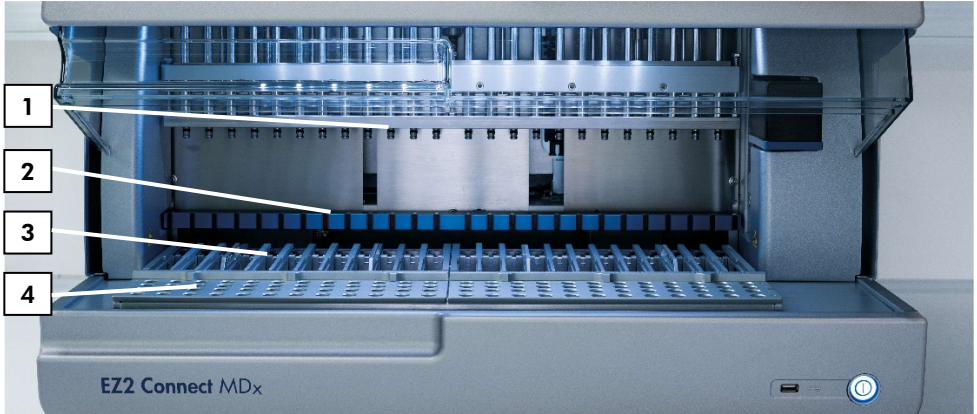


그림 4. EZ2 Connect MDx 기기의 개요. (1) 피펫터 헤드, (2) 자석 모듈, (3) 카트리지 랙, (4) 팁 랙(랩웨어 홀더).



그림 5. EZ2 Connect MDx 기기의 작업대. (1) 용해를 위한 시약 카트리지(RCV)가 로드된 2ml 튜브(ST)가 있는 가열 블록. (2) A 열에 로드된 검체 튜브(ST)(2ml). (3) B 열에 로드된 용출 완충액(AVE) 내 운반체 RNA(CARRIER) 및 내부 대조물질(Internal Control, IC)(사용한 경우)을 함유한 튜브(ET)(1.5ml). (4) C 열에 로드된 일회용 필터 팁(DFT)이 있는 일회용 팁 홀더(DTH). (5) D 열에 로드된 용출 튜브(Elution Tube, ET)(1.5 ml).

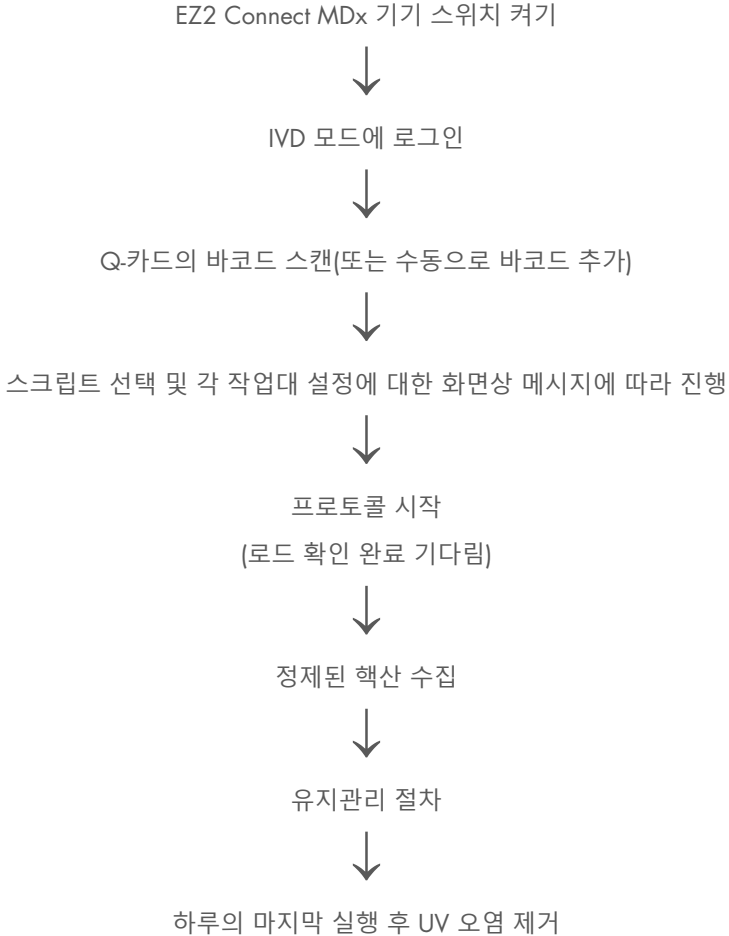
EZ2 Connect MDx 에서 데이터 추적

EZ2 Connect MDx 는 과정 제어 및 신뢰성 향상을 위해 다양한 데이터를 완전히 추적할 수 있도록 합니다. 사용자 ID 는 소프트웨어 로그인을 통해 추적됩니다. EZ1 DSP Virus Kit 로트 번호 및 유효 기간은 Q-카드 바코드를 사용하여 프로토콜 시작 시 입력하거나 터치스크린을 사용하여 수동으로 입력합니다. 검체 정보 및 실행 설정은 프로토콜을 설정하는 동안 입력합니다. 프로토콜 실행 종료 시 보고서 파일을 생성할 수 있습니다. GUI 의 "Data(데이터)" 섹션에서 실행 보고서를 USB 스틱에 다운로드할 수 있습니다(항상 ".pdf" 및 ".xml" 파일 형식으로).

EZ2 Connect MDx 기기에 대해 WiFi/LAN 연결성이 확립된 경우, 실행 및 검체 정보는 LIMS(구성된 경우)를 통해 직접 처리할 수 있습니다.

EZ2 Connect MDx 기기 설정에 대한 추가 세부사항은 *EZ2 Connect MDx 사용자 설명서*(www.qiagen.com 의 제품 페이지 리소스 탭에서 확인할 수 있음)를 참조하십시오.

EZ2 Connect MDx 에서 EZ1 DSP Virus 작업의 작업 흐름



EZ1 기기로 작업

EZ1 기기의 주요 기능은 다음과 같습니다.

- 실행당 1~6 개의 검체(BioRobot EZ1 DSP 및 EZ1 Advanced) 또는 1~14 개의 검체(EZ Advanced XL)에서 고품질 핵산 정제
- 환경 발자국을 줄이는 작은 실험실 공간
- 즉시 사용할 수 있는 프로토콜이 포함된 사전 프로그래밍된 EZ1 DSP Card
- 쉽고 안전하고 빠른 설정을 위한 사전 충전 밀봉 시약 카트리리지
- 핵산 정제 완전 자동화

EZ1 Advanced 및 EZ1 Advanced XL의 추가 기능은 다음과 같습니다.

- 바코드 판독 및 검체 추적
- 키트에 제공되는 Q-카드로 키트 데이터 추적
- 작업대 표면의 오염 제거를 지원하는 UV 램프

i UV 오염 제거는 EZ1 Advanced 및 EZ1 Advanced XL 작업대 표면의 가능한 병원체 오염을 줄이는 데 도움이 됩니다. 비활성화의 효율은 각 특정 유기체에 대해 결정되어야 하며, 예를 들어 층 두께 및 검체 유형에 따라 다릅니다. QIAGEN에서는 특정 병원체에 대한 완전한 박멸을 보장할 수 없습니다.

EZ1 DSP Card, EZ1 Advanced DSP Card, EZ1 Advanced XL DSP Card

바이러스 핵산 및 박테리아 DNA 정제를 위한 EZ1 DSP Virus 프로토콜은 사전 프로그래밍된 EZ1 Card 에 저장됩니다(통합 회로 카드). 사용자가 EZ1 Advanced XL DSP Card 를 EZ1 Advanced XL 에, EZ1 Advanced DSP Card 를 EZ1 Advanced 에, 또는 EZ1 DSP Card*를 BioRobot EZ1 DSP 기기에 삽입하기만 하면 기기에서 즉시 프로토콜을 실행할 수 있게 됩니다(그림 6 및 그림 7).



그림 6. EZ1 DSP Card 를 사용한 쉬운 프로토콜 설정. 프로토콜로 사전 프로그래밍된 EZ1 Card 를 EZ1 기기에 삽입.

- ❗ EZ1 Card 가 삽입된 후에만 기기 스위치를 켜야 하며, EZ1 Card 가 완전히 삽입되었는지 확인하십시오! 그렇지 않으면 필수 기기 데이터가 손실되어 메모리 오류가 발생합니다. 기기의 스위치가 켜진 상태에서 EZ1 Card 를 교환해서는 안 됩니다.



그림 7. EZ1 Card 슬롯에 완전히 삽입된 카드.

시약 카트리지(RCV)

단일 검체에서 핵산을 정제하기 위한 시약은 단일 시약 카트리지(RCV)에 들어 있습니다(그림 8 및 그림 9). 카트리지(RCV)의 웰 대부분에는 자성 입자, 용해 완충액, 세척 완충액 또는 RNase 가 없는 용출 완충액(AVE) 등 특정 시약이 포함됩니다. 각 웰에는 필수 양의 시약만 포함되어 있으므로 정제 절차 종료 시 잔여 시약으로 인한 추가 폐기물이 발생하는 일이 방지됩니다.

EZ1 DSP Virus Kit 와 함께 공급된 시약 카트리지(RCV)는 운반체 RNA(CARRIER)를 제외한 바이러스 핵산 및 박테리아 DNA 정제에 필요한 모든 시약으로 사전 충전되어 있습니다. 운반체 RNA(CARRIER) 및 내부 대조물질(Internal Control, IC)(선택 사항)은 시약 카트리지(RCV) 외부의 튜브에 첨가됩니다.



그림 8. 시약 카트리지(RCV), EZ1 DSP Virus Kit 의 밀봉된 사전 충전 RCV.

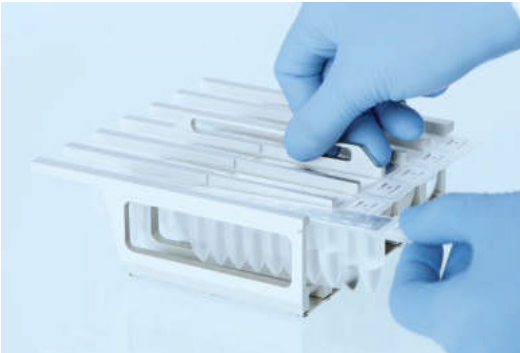


그림 9. 시약 카트리지 랙 로딩. 카트리지 랙 자체에 시약 카트리지(RCV)가 로드되어야 하는 방향을 표시하는 화살표가 부착되어 있습니다.

작업대

EZ1 기기의 작업대는 사용자가 검체 및 EZ1 DSP Virus Kit 의 구성품을 로드하는 곳입니다(그림 10).

작업대 설치 세부사항은 사용자가 작업대 설정을 시작할 때 EZ1 Advanced 및 EZ1 Advanced XL 의 진공 형광 디스플레이(Vacuum Fluorescent Display, VFD) 또는 BioRobot EZ1 DSP 제어 패널의 액정 디스플레이(Liquid-crystal Display, LCD)에 표시됩니다.

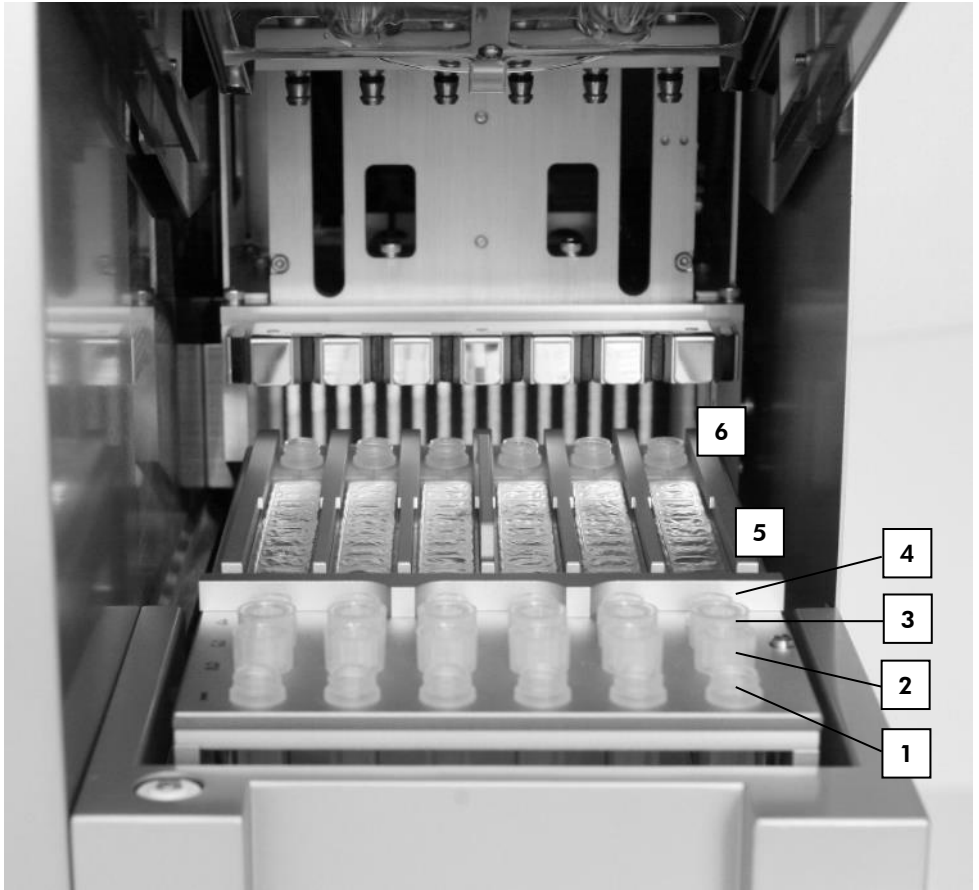



그림 10. EZ1 기기의 작업대. (1) 1 열에 로드된 용출 튜브(ET)(1.5ml). (2) 2 열에 로드된 일회용 필터 팁(DFT)이 있는 일회용 팁 홀더(DTH). (4) 3 열에 로드된 용출 완충액(AVE) 내 운반체 RNA(CARRIER) 및 내부 대조물질(Internal Control, IC)(사용한 경우)을 함유한 튜브(ET)(1.5ml). (4) 4 열에 로드된 검체 튜브(ST)(2ml). (5) 카트리지가 랙에 포드된 시약 카트리지가(RCV). (6) 용해를 위한 시약 카트리지의 2ml 튜브(ST)가 있는 가열 블록.

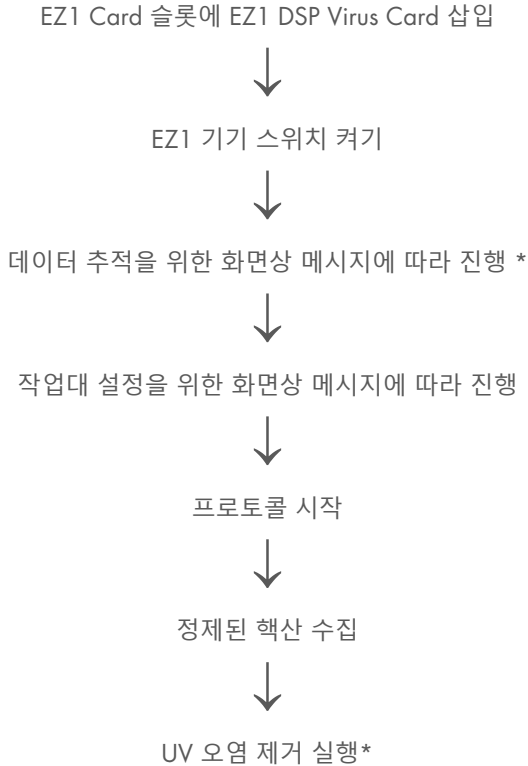
EZ1 Advanced 및 EZ1 Advanced XL 에서 데이터 추적

EZ1 Advanced 및 EZ1 Advanced XL 은 과정 제어 및 신뢰성 향상을 위해 다양한 데이터를 추적할 수 있도록 합니다. EZ1 Kit 로트 번호 및 유효 기간은 Q-카드 바코드를 사용하여 프로토콜 시작 시 입력합니다. 사용자 ID 및 Q-카드 바코드는 키패드를 통해 수동으로 입력하거나 휴대용 바코드 판독기를 사용하여 바코드를 스캔해 입력할 수 있습니다. 검체 및 분석 정보와 참고사항 또한 프로토콜 시작 시 선택적으로 입력할 수 있습니다. 각 프로토콜 실행 종료 시 보고서 파일이 자동으로 생성됩니다. EZ1 Advanced 및 EZ1 Advanced XL 은 최대 10 개의 결과 파일을 저장할 수 있고, 데이터는 PC 에 전송하거나 직접 프린터로 인쇄할 수 있습니다.

 데이터 추적 시 항상 EZ1 Advanced 의 위치 A 및 EZ1 Advanced XL 의 위치 1 에서 검체 로딩을 시작하십시오. 나머지 검체를 작업대의 다음 빈 위치에 연속적으로 배치하십시오.

데이터 추적에 대한 추가 세부사항은 각 사용자 설명서(www.qiagen.com 의 제품 페이지 리소스 탭에서 확인할 수 있음)를 참조하십시오.

EZ1 에서 EZ1 DSP Virus 작업의 작업 흐름



* EZ1 Advanced 및 EZ1 Advanced XL 만 해당.

운반체 RNA(CARRIER) 준비

운반체 RNA(CARRIER)는 정제 절차 동안 두 가지 목적을 위한 역할을 합니다. 첫 번째로, 자생 입자의 실리카 표면에 바이러스 핵산 및 박테리아 DNA 가 결합하는 것을 강화합니다(특히, 검체에 표적 분자가 매우 적은 경우). 두 번째로, 운반체 RNA(CARRIER)의 대량 첨가는 용해 완충액의 수소 결합 억제 염 및 세제에 의하여 RNase 가 변성되지 않는 매우 드문 경우, 바이러스 RNA 가 변성되는 가능성을 줄입니다. 운반체 RNA(CARRIER)가 반응에 추가되지 않는 경우, 바이러스 DNA 또는 RNA, 또는 박테리아 DNA 의 회수율이 감소할 수 있습니다.

키트와 함께 제공되는 동결 건조 운반체 RNA(CARRIER)는 48 개 검체 준비에 충분합니다. 정제 절차에 사용되는 운반체 RNA(CARRIER) 농도에 따라 EZ1 DSP Virus Kit 를 서로 다른 많은 증폭 시스템과 호환되는 일반적인 정제 시스템으로 사용할 수 있게 되며, 이는 광범위한 박테리아와 DNA 및 RNA 바이러스에서 핵산을 정제하는 데 적합합니다. 그러나, 증폭 시스템은 반응 내에 존재하는 핵산의 총량에 따라 효율이 다릅니다. EZ1 DSP Virus Kit 를 사용하여 얻은 용출물에는 바이러스 및 박테리아 핵산과 운반체 RNA(CARRIER)가 포함되며, 각 용출물 내 운반체 RNA(CARRIER)의 양은 바이러스 및 박테리아 핵산의 양을 크게 상회합니다. 증폭 반응에서 최고 수준의 민감도를 얻으려면 첨가되는 운반체 RNA(CARRIER) 용액의 양을 조정해야 할 수 있습니다.

용출 완충액(AVE) 310 μ l 에 동결 건조된 운반체 RNA(CARRIER)를 완전히 녹이고, 이를 편리한 용량의 분주에 첨가한 후 2~8°C 에서 보관하십시오. 재구성된 CARRIER 저장 용액의 농도는 1ng/ μ l 이며 최대 4 주 동안 안정적입니다.

처리된 각 검체의 경우, 용출 완충액(AVE)을 사용하여(및/또는 내부 대조물질 용액) 총 용량 60 μ l 에 운반체 RNA(CARRIER) 저장 용액 3.6 μ l 를 희석하십시오. 이 50 μ l 용량의 운반체 RNA-용출 완충액(CARRIER-AVE) 용액은 EZ1/EZ2 기기에 의해 용해 혼합액으로 옮겨지며, 이는 3 μ g 운반체 RNA(CARRIER)에 해당합니다.

내부 대조물질(Internal Control, IC)을 사용하고 싶은 경우, 다음 "내부 대조물질(Internal Control, IC) 사용" 섹션을 참조하십시오.

참고: 검체당 3 μ g 운반체 RNA(CARRIER)가 첨가되도록 정제 절차가 최적화되어 있습니다. 특정 증폭 시스템에 다른 용량의 운반체 RNA(CARRIER)가 더 나은 것으로 확인되는 경우, 용출 완충액(AVE)과 혼합된 운반체 RNA(CARRIER) 저장 용액량을 변경하거나 다른 농도의 저장 용액을 사용하십시오. 검체당 운반체 RNA-용출 완충액(CARRIER-AVE) 용액의 총 용량은 60 μ l 가 되어야 하며, 이 중 50 μ l 는 용해 혼합액으로 옮겨집니다. 다른 용량의 운반체 RNA(CARRIER)를 사용할 때 각 특정 검체 유형 및 다운스트림 분석에 대해 검증해야 합니다.

내부 대조물질(Internal Control, IC) 사용

시판 증폭 시스템과 함께 EZ1 DSP Virus Kit 를 병용하는 경우 검체 준비 효율성을 모니터링하려면 정제 절차에 내부 대조물질(Internal Control, IC)을 도입해야 할 수 있습니다.

내부 대조물질 DNA 또는 RNA 는 하나의 혼합물에 운반체 RNA(CARRIER) 저장 용액(3.6 μ l)과 섞여야 합니다. 각 검체의 경우 운반체 RNA-내부 대조물질(CARRIER-IC) 혼합물은 용량이 60 μ l 여야 하며, 이 중 50 μ l 는 용해 혼합물로 옮겨집니다. 이 용량은 3 μ l 운반체 RNA(CARRIER) 저장 용액 + 47 μ l 용출 완충액(AVE) 및/또는 내부 대조물질 용액에 해당합니다.

i 내부 대조물질(Internal Control, IC)을 직접 검체에 첨가하지 마십시오. IC 는 CARRIER 용액과 섞어 하나의 혼합물로만 사용하십시오.

특정 다운스트림 공정에 대한 내부 대조물질(Internal Control, IC)의 최적 용량을 결정할 때 제조업체의 지침을 참조하십시오. 권장하는 것 이외의 용량을 사용하면 증폭 효율이 저하될 수 있습니다. EZ1 DSP Virus 프로토콜에 필요한 내부 대조물질(Internal Control, IC) 용량을 결정하려면 용출물의 용량을 고려해야 합니다. 내부 대조물질(Internal Control, IC)의 올바른 용량을 계산하는 방법에 대한 세부적인 지침은 92 페이지의 “내부 대조물질(Internal Control, IC)” 섹션을 참조하십시오.

내부 대조물질(Internal Control, IC)은 EZ1 DSP Virus Kit 에 제공되지 않습니다.

프로토콜: 대변 전처리

이 프로토콜은 핵산 정제 전 고체 및 액체 대변 검체 전처리를 위한 것입니다 (EZ2 Connect MDx 기기의 경우 40 페이지 및 EZ1 기기의 경우 48 페이지).

절차

1. 100mg 의 고체 또는 액체 대변을 900µl Buffer ASL 에 재현탁하십시오.
Buffer ASL 은 별도로 주문해야 합니다(98 페이지 주문 정보 참조).
 - ① 더 적거나 더 많은 대변을 사용하는 경우, 희석 비율 1:10(w/v)을 유지하도록 Buffer ASL 의 용량을 조정해야 합니다. 30mg 대변을 사용하는 것은 EZ1/EZ2 기기를 이용한 추출에 대한 전처리 후 최소 200µl 검체 용량을 확보하기 위한 최소 요건입니다.
2. 검체를 1~2 분 동안 또는 현탁액이 균일해질 때까지 강하게 볼텍싱하십시오.
 - ① 아주 단단한 대변으로 작업하는 경우 재현탁 절차가 연장될 수 있습니다. 아니면 위아래로 피펫팅하여 검체를 분쇄하십시오. 더 쉬운 피펫팅을 위해 피펫 팁 끝부분을 잘라내야 할 수 있습니다. 일부 입자는 여전히 용해되지 않은 상태일 수 있으며 다음 단계 동안 제거될 것입니다.
3. 벤치에서 실온으로 10 분 동안 검체를 배양하여 큰 대변 입자가 가라앉도록 하십시오.
4. 큰 대변 입자를 캐리오버하지 않으면서 현탁액의 상단에서 최소 400µl 의 상층액을 새로운 1.5ml 스크류 캡 튜브로 옮기십시오.
 - ① 상층액과 함께 고체 대변 입자가 EZ1 기기에 옮겨지지 않도록 하십시오. 검체 내 큰 대변 입자는 EZ1/EZ2 기기의 필터 팁 막힘을 유발할 수 있습니다.
5. 수조 * 또는 Thermo-shaker 에서 70°C 로 10 분 동안 검체를 배양하십시오.*

* 제조업체의 권장사항에 따라 기기를 정기적으로 점검, 유지관리, 캘리브레이션했음을 확인하십시오.

6. 정제 프로토콜을 진행하십시오(40 또는 48 페이지).

- ① 대변 검체의 경우, 추출에 200 μ l 검체 용량을 사용하고 용출에 120~150 μ l 용량을 사용하는 것이 좋습니다. 더 높은 검체량 및 더 낮은 용출량은 다운스트림 공정의 민감도를 감소시킬 수 있습니다.
- ① 대변에서 얻은 용출물이 탁한 경우, 최대 속도(20,000 \times g)로 3 분 동안 원심분리하여 맑은 용출물을 얻는 것이 좋습니다. 이는 맑은 용출물에 부정적인 영향을 미치지 않으며, 다운스트림 공정에서 탁한 용출물의 성과를 개선합니다.

프로토콜: 그람 양성 박테리아의 유전체 DNA 분리를 위한 전처리

EZ1/EZ2 Connect MDx 기기에 검체를 옮기기 전에 효소 전처리를 통해 일부 그람 양성 박테리아의 DNA 추출을 개선할 수 있습니다. 이 프로토콜은 대변 검체에 사용하지 마십시오.

절차:

1. 5000 x g 로 10 분간 원심분리하여 박테리아를 펠렛화하십시오.
2. 2ml 스크류 캡 튜브 내 180 μ l 효소 용액(20mg/ml 리소자임, 20mM Tris-HCl, pH 8.0, 2mM EDTA, 1.2% Triton X-100)에 박테리아 펠렛을 현탁하십시오.
3. 수조 * 또는 thermo-shaker*에 배치하고 37°C 에 최소 30 분 동안 배양하십시오.
4. 튜브를 짧게 원심 분리하여 뚜껑 안쪽에서 액체 방울을 제거합니다.
5. 정제 프로토콜을 진행하십시오(40 또는 48 페이지).

* 제조업체의 권장사항에 따라 기기를 정기적으로 점검, 유지관리, 캘리브레이션했음을 확인하십시오.

프로토콜: EZ2 Connect MDx 를 사용한 바이러스 핵산 및 박테리아 DNA 정제

시작 전 중요 사항

- EZ1 DSP Virus Kit 를 처음으로 사용하는 경우, 15 페이지부터 시작하는 “시약 보관 및 취급”, “시료 보관 및 취급”, “EZ2 Connect MDx 기기에서 작업” 섹션을 읽으시기 바랍니다.
- 시약 카트리지(RCV)는 구아니딘염을 함유하고 있으므로 표백제가 포함된 소독 시약과 함께 사용할 수 없습니다. 취급 시 적절한 안전 조치를 취하고 장갑을 착용합니다. 안전성 정보는 12 페이지를 참조하십시오.
- 프로토콜의 모든 단계를 실온(15~25°C)에서 수행하십시오. 설정 절차 동안에는 빠르게 작업하십시오.
- 키트를 수령한 후 키트 구성품이 손상되지 않았는지 확인하십시오. 시약 카트리지(RCV) 또는 기타 키트 구성품이 손상된 경우, QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 문의하십시오. 액체가 누출된 경우 “경고 및 예방조치”(12 페이지)를 참조하십시오. 손상된 시약 카트리지(RCV) 또는 기타 키트 구성품을 사용하면 저조한 키트 성능, 사용자 부상 또는 기기 손상을 유발할 수 있으므로 이를 사용하지 마십시오. RCV 의 포장지를 제거하지 마십시오.

시작하기 전 해야 할 일

- 혈청, 혈장, CSF, UTM 에서 채취한 비인두 도말을 17 페이지 “시료 보관 및 취급”에 설명된 대로 준비하십시오. 해동된 검체에 동결침전제제가 보이는 경우, 3 분 동안 6800 x g 에서 원심분리하고, 펠렛을 건드리지 않으면서 새로운 튜브에 상층액을 옮긴 후 즉시 정제 절차를 시작하십시오.
- 17 페이지 “시료 보관 및 취급” 및 37 페이지 “프로토콜: 대변 전처리”에 설명된 대로 대변 검체를 준비하십시오.

- 그람 양성 박테리아의 DNA 분리 시 "프로토콜: 그람 양성 박테리아의 유전체 DNA 분리를 위한 전처리"(39 페이지)에 설명된 대로 검체를 준비하십시오.
- 처음으로 사용하기 전에 운반체 RNA(CARRIER) 저장 용액(선택적 내부 대조물질[Internal Control, IC]과 함께)을 준비하십시오. "운반체 RNA(CARRIER) 준비"(35 페이지) 및 "내부 대조물질(Internal Control, IC) 사용"(36 페이지)에 설명된 대로 310 μ l 용출 완충액(AVE)(키트에 제공)에 동결건조된 운반체 RNA(CARRIER)를 녹이고 내부 대조물질(Internal Control, IC)(선택사항)과 함께 혼합하십시오.

절차

1. 각 검체의 경우 1.5ml 튜브(ET)(공급)에 3.6 μ l의 용해된 운반체 RNA(CARRIER)(및 선택적 내부 대조물질[Internal Control, IC])를 포함하는 60 μ l 운반체 RNA 용액을 준비하십시오. 용액을 10회 피펫팅하여 부드럽게 혼합하십시오. 볼텍싱하지 마십시오. 화면상 지침에 명시된 대로 1.5ml 튜브(ET)를 B 열에 로드합니다.

i EZ2 Connect MDx 기기로 적절한 용량을 옮길 수 있도록 운반체 RNA(CARRIER) 용액이 1.5ml 튜브(ET)의 바닥에 있도록 하십시오.

2. 최대 24개의 검체를 실온(15~25°C)이 되도록 하고 작업대에 로딩하기 전에 2ml 검체 튜브(ST)(스커트 없음, 키트와 함께 제공)에 100, 200 또는 400 μ l 검체를 옮기십시오. 동결된 검체를 사용하는 경우, 실온에서 해동하여 실온이 되도록 하고, 볼텍싱하여 잘 혼합하십시오.

대변에서 바이러스/박테리아 핵산을 추출하는 경우 200 μ l의 검체 용량이 권장됩니다. 검체 전처리 시 적절한 전처리 프로토콜을 참조하십시오.

i 키트와 함께 제공된 2ml 튜브(ST)(스커트 없음)만 사용하십시오.

i 바이러스 핵산 또는 박테리아 DNA의 수율을 크게 저하시킬 수 있으므로 해동된 검체를 다시 냉동하거나 2~8°C에서 6시간 넘게 검체를 보관하지 마십시오.

❗ 응고된 검체 물질을 검체 튜브에 옮기지 마십시오. 그러면 절차가 중단되고 기기 사고가 발생할 가능성이 있습니다.

❗ 100, 200 또는 400 μ l 가 넘는 검체 용량을 사용하지 마십시오. 용해 및 바이러스 핵산 또는 박테리아 DNA 의 자성 입자 결합 후 약간의 용해물이 검체 튜브(ST)에 옮겨집니다. 검체 튜브(ST)에 남은 검체 물질을 다시 사용하지 마십시오.

3. EZ2 Connect MDx 기기 스위치를 켜십시오.

전원 스위치는 기기 우측 전면에 위치해 있습니다.

4. 소프트웨어 IVD 모드를 선택하여 기기에 로그인하십시오. 사용자 ID 및 비밀번호를 입력하십시오.

EZ2 Connect MDx 소프트웨어는 프로토콜 실행 설정 과정을 안내합니다. 이 과정은 설정 탭의 SCAN 또는 LIMS 버튼을 눌러 시작합니다.

❗ LIMS 기능/버튼을 사용하여 실행을 설정하려면 *EZ2 Connect MDx 사용자 설명서*를 참조하십시오.

5. Scan(스캔)을 누르고 다음 화면에 표시되는 필드를 누르십시오. 키트와 함께 제공되는 Q-카드의 1D 바코드를 스캔하십시오.

Q-카드의 1D 바코드를 스캔하면 프로토콜 유형이 자동으로 선택됩니다.

❗ Q-카드 스캔에 실패하는 경우, 사용자 인터페이스를 통해 키트 번호를 입력할 수도 있습니다.

❗ Q-카드 스캔은 모든 필수 유지관리 절차가 마무리된 경우에만 이용할 수 있습니다. 그렇지 않은 경우, Q-카드를 스캔하기 전에 먼저 유지관리 절차를 시작하십시오.

❗ 성능 손상을 유발할 수 있으므로 만료된 RCV 를 사용하지 마십시오. 검체가 무효로 표시될 것입니다.

6. 계속하려면 Next(다음)를 누르십시오.

참고: 설정 화면으로 돌아가려면 Back(뒤로가기) 또는 Cancel(취소)을 누르십시오.

7. 각 매개변수 옵션 옆의 상자를 눌러 다른 프로토콜 매개변수를 선택하십시오.
8. 계속하려면 Next(다음)를 누르십시오.
9. 검체 위치를 선택하려면 작업대 도표에서 관련 열을 누르거나 도표 아래 해당 열 번호를 누르십시오. 선택한 위치가 강조 표시됩니다. 모든 위치를 선택하거나 선택 해제하려면, Select all(모두 선택) 토글을 선택하십시오.
 - ❗ 적어도 한 개의 검체 위치를 선택한 후 Next(다음) 버튼이 활성화됩니다.
10. 계속하려면 Next(다음)를 누르십시오.
11. 수동으로 또는 휴대용 바코드 스캐너를 사용하여 검체 ID 를 입력하십시오.
 - ❗ 바코드 스캐너를 사용할 때 사용하는 바코드가 적절한 유형이며 스캐너로 판독할 수 있는 품질인지 확인하십시오.
 - ❗ 검체 ID 는 ID 를 누르고 화면상의 키보드를 사용하여 수동으로 변경할 수 있습니다.
 - ❗ 검체 ID 는 고유해야 합니다. Next(다음) 버튼은 모든 검체에 고유한 검체 ID 가 입력될 때까지 활성화되지 않습니다.
 - ❗ 설정을 계속하기 전에 검체 ID 가 올바른지 확인하십시오.
12. 계속하려면 Next(다음)를 누르십시오.
13. 기기 도어를 열고 기기에서 카트리지 랙과 팁 랙(랩웨어 홀더라고도 함)을 모두 꺼내십시오. 이들을 벤치에 안전하게 배치하십시오. 팁 랙을 꺼내려면 랙의 양쪽을 잡고 부드럽게 위로 당기십시오.
 - ❗ 검체에 대해 어떤 위치를 선택했느냐에 따라 작업대의 왼쪽 및/또는 오른쪽에서 랙을 꺼내십시오.
 - ❗ 다른 기기간에 카트리지 랙과 팁 랙을 교환하지 마십시오.
14. 자성 입자와 혼합되도록 시약 카트리지(RCV)를 4 회 뒤집으십시오. RCV 를 사용하기 전에 “시작하기 전 해야 할 일” 섹션을 참조하십시오.
15. RCV 를 카트리지 랙에 배치하고, 제자리에 딸깍하고 끼워질 때까지 카트리지를 아래로 누르십시오.

16. 로드된 각 RCV 의 웰 11 에 빈 검체 튜브(ST)(스커트 없음, 키트와 함께 제공)를 배치하십시오.

❗ 빈 검체 튜브(ST)가 뚜껑 없이 로드되도록 하십시오.

빈 튜브는 프로토콜의 용해 단계에 필요합니다. E22 Connect MDx 기기는 튜브 존재를 감지하지 않습니다.

17. 모든 RCV 가 준비되면 두 카트리지 랙을 작업대에 배치하십시오.

❗ 랙이 올바른 위치에 배치되고 위치 번호가 랙에 새겨졌는지 확인하십시오. 번호는 왼쪽에서 오른쪽으로 1 부터 24 까지로 읽습니다.

18. 계속하려면 Next(다음)를 누르십시오.

19. CARRIER(Internal Control, IC) 튜브(1.5ml 용출 튜브, ET, 키트와 함께 제공)를 팁 랙의 B 옆에 로드합니다("랩웨어 홀더").

CARRIER(Internal Control, IC) 혼합물 준비에 대한 세부사항은 "운반체 RNA(CARRIER) 준비"(35 페이지) 및 "부록 B: 내부 대조물질(Internal Control, IC) 양 계산"(92 페이지) 섹션을 참조하십시오.

❗ 충분한 용량의 CARRIER(Internal Control, IC)을 포함한 1.5ml 용출 튜브(ET)가 뚜껑 없이 로드되었는지 확인하십시오.

20. 팁을 팁 홀더에 배치하고 랙의 C 옆에 로드하십시오.

❗ 팁과 팁 홀더를 준비할 때 장갑을 끼고 팁 상부 부분만 만지십시오.

21. 1.5ml 용출 튜브(ET)를 랙의 D 옆에 로드하십시오.

❗ 용출 튜브가 뚜껑 없이 로드되도록 하십시오.

22. 랙의 A 옆에 100, 200 또는 400 μ l 검체를 포함한 2ml 검체 튜브(ST)(스커트 없음)를 로드하십시오(선택한 프로토콜 매개변수에 따라).

❗ 검체 튜브가 11 단계에서 선택한 대로 올바른 위치에 로드되었는지 확인하십시오. 선택사항: 검체 ID 및 방향을 추적하려면 "부록 C: E21 DSP Virus 시스템에 사용하는 검체 시트"의 템플릿을 사용하십시오.

- ① 검체 튜브가 뚜껑 없이 로드되도록 하십시오.
- ① 검체 튜브에 올바른 용량의 검체 물질이 포함되도록 하십시오. 로드 확인 시 올바른 검체 용량이 로드되었는지 감지되지 않습니다.
- ① 로드 확인 오류를 유발할 수 있으므로 검체 상부에 또는 검체 튜브 가장자리에 거품이나 방울이 형성되는 것을 방지하십시오.
- ① 기기에 장착하여 장기간 보관하면 증발이 발생하거나 장착 중 안정성에 영향을 미칠 수 있으므로 작업대에 검체를 배치한 후 즉시 프로토콜을 시작하십시오.

23. 모든 튜브와 팁이 로드되면 작업대의 각 팁 랙(왼쪽 및 오른쪽 랙)을 배치하고 후드를 닫으십시오.

- ① 랙이 올바른 위치에 배치되고 위치 번호가 랙에 새겨졌는지 확인하십시오. 번호는 왼쪽에서 오른쪽으로 1 부터 24 까지로 읽습니다. 사용한 검체 위치에 관계 없이 작업대에 항상 두 팁 랙을 모두 배치하십시오.

24. 계속하려면 Next(다음)를 누르십시오.

25. 올바른 프로토콜, 검체 및 용출 용량, 검체 수에 대한 실행 설정 개요에 대한 화면상의 정보를 확인하십시오.

26. 모든 정보가 올바른 경우, Start(시작)를 눌러 프로토콜 실행을 진행하십시오.

- ① 변경하려면 Return(복귀)을 눌러 실행 설정으로 돌아가십시오.

27. 로드 확인이 수행됩니다. 프로토콜은 로드 확인이 성공적으로 완료된 후에 자동으로 시작됩니다.

- ① 기기를 두고 자리를 뜨기 전에 로드 확인이 성공적으로 완료될 때까지 기다리십시오. 로드 확인 실패 시(예: 작업대 설정 중 오류로 인해) 실행이 시작되지 않으며 작동자가 조치를 취해야 합니다. 오랜 시간 동안 기기가 방치되면 검체 및 시약 안정성이 저하될 수 있습니다.

성공적인 로드 확인 후 30 단계를 계속하십시오.

28. 로드 확인에 실패하는 경우, "Load check failed"(로드 확인 실패) 화면이 표시됩니다. 랩웨어 설치가 잘못된 경우 빨간색으로 표시됩니다. 로드 확인 오류에 대한 세부사항을 확인하려면 각 열을 누르십시오.
- ① 작업대의 강조된 위치의 로딩을 육안으로 확인하십시오. 첫 번째 육안 검사 완료 없이 실패한 로드 확인을 반복적으로 재실행하지 마십시오.
 - ① 로드 확인 한계 및 실패에 대한 세부 정보는 *EZ2 Connect MDx 사용자 설명서*를 참조하십시오.
29. 작업대 로딩이 올바른 것으로 확인되면 "팁 랙 로드" 화면에서 Next(다음)를 누르십시오. "실행 설정 선택 개요" 화면이 표시되며, 이제 여기에서 Skip load check(로드 확인 건너뛰기) 버튼이 활성화됩니다. 프로토콜 실행을 계속하려면 Skip load check(로드 확인 건너뛰기) 또는 Start(시작)를 누르십시오.
- ① Skip load check(로드 확인 건너뛰기) 옵션을 선택할 때 모든 작업대 위치에 모든 소모품이 올바르게 배치되어 있는지 육안으로 확인하는 것은 작동자의 책임입니다.
중요: 건너뛴 로드 체크는 실행 보고서에 기록되며 모든 검체는 무효로 표시됩니다.
 - ① 중요: 두 번째로 로드 확인이 실패하는 경우, 작업대에서 검체와 CARRIER(Internal Control, IC)를 꺼내고 튜브를 닫은 후 적절한 조건에서 이를 보관하십시오. 카메라를 다시 캘리브레이션하고 QIAGEN 기술 지원팀에 추가 지원을 문의하십시오.
30. 로드 확인이 성공적으로 완료된 후, 실행 진행 및 경과된 실행 시간이 "Protocol run in progress"(프로토콜 실행 진행 중) 화면에 표시됩니다.
31. 프로토콜이 성공적으로 마무리되면 "Protocol run completed"(프로토콜 실행 완료) 화면이 나타납니다.
32. 후드를 열고, 팁 랙을 조심스럽게 꺼낸 후 벤치에 배치하십시오. 먼저, D 열에서 정제된 DNA/RNA 를 제거하십시오. 단일 용출 튜브(ET)를 꺼내는 동안 다른 튜브를 건드리지 마십시오. 키트와 함께 제공되는 뚜껑이 있는 용출 튜브를 닫으십시오.

프로토콜: EZ1 기기를 사용한 바이러스 핵산 및 박테리아 DNA 정제

시작 전 중요 사항

- EZ1 DSP Virus Kit 를 처음으로 사용하는 경우, 15 페이지부터 시작하는 “시약 보관 및 취급”, “시료 보관 및 취급”, “EZ1 기기로 작업” 섹션을 읽으시기 바랍니다.
- 시약 카트리지(RCV)는 구아니딘염을 함유하고 있으므로 표백제가 포함된 소독 시약과 함께 사용할 수 없습니다. 취급 시 적절한 안전 조치를 취하고 장갑을 착용합니다. 경고 및 예방조치는 12 페이지를 참조하십시오.
- 프로토콜의 모든 단계를 실온(15~25°C)에서 수행하십시오. 설정 절차 동안에는 빠르게 작업하십시오.
- 키트를 수령한 후 키트 구성품이 손상되지 않았는지 확인하십시오. 시약 카트리지(RCV) 또는 기타 키트 구성품이 손상된 경우, QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 문의하십시오. 액체가 누출된 경우 “경고 및 예방조치”(12 페이지)를 참조하십시오. 손상된 시약 카트리지(RCV) 또는 기타 키트 구성품을 사용하면 저조한 키트 성능, 사용자 부상 또는 기기 손상을 유발할 수 있으므로 이를 사용하지 마십시오. RCV 의 포장지를 제거하지 마십시오.
- 절차의 일부 단계에서 2 가지 중 한 가지를 선택합니다. EZ1 Advanced 또는 EZ1 Advanced XL 을 사용하는 경우 ▲를 선택하십시오. BioRobot EZ1 DSP 를 사용하는 경우 ■을 사용하십시오.

시작하기 전 해야 할 일

- 혈청, 혈장, CSF, UTM 에서 채취한 비인두 도말을 17 페이지 “시료 보관 및 취급”에 설명된 대로 준비하십시오. 해동된 검체에 동결침전제제가 보이는 경우, 3 분 동안 6800 x g 에서 원심분리하고, 펠렛을 건드리지 않으면서 새로운 튜브에 상층액을 옮긴 후 즉시 정제 절차를 시작하십시오.

- 17 페이지 “시료 보관 및 취급” 및 37 페이지 “프로토콜: 대변 전처리”에 설명된 대로 대변 검체를 준비하십시오.
- 그람 양성 박테리아의 DNA 분리 시 “프로토콜: 그람 양성 박테리아의 유전체 DNA 분리를 위한 전처리”(39 페이지)에 설명된 대로 검체를 준비하십시오
- 처음으로 사용하기 전에 운반체 RNA(CARRIER) 저장 용액(선택적 내부 대조물질[Internal Control, IC]과 함께)을 준비하십시오. “운반체 RNA(CARRIER) 준비” 및 “내부 대조물질(Internal Control, IC) 사용”(35~36 페이지)에 설명된 대로 310µl 용출 완충액(AVE)(키트에 제공)에 동결건조된 운반체 RNA(CARRIER)를 녹이고 내부 대조물질(Internal Control, IC)(선택사항)과 함께 혼합하십시오.

절차

1. 각 검체의 경우 1.5ml 튜브(Elution Tube, ET)(공급)에 3.6µl 의 용해된 운반체 RNA(CARRIER)(및 선택적 내부 대조물질[Internal Control, IC])를 포함하는 60µl 용액을 준비하십시오. 용액을 10 회 피펫팅하여 부드럽게 혼합하십시오. 볼텍싱하지 마십시오. 화면상 지침에 명시된 대로 1.5ml 튜브(ET)를 3 열에 로드합니다.

① EZ1 기기로 적절한 용량을 옮길 수 있도록 운반체 RNA(CARRIER) 용액이 1.5ml 튜브(ET)의 바닥에 있도록 하십시오.

2. 검체를 실온(15~25°C)이 되도록 하고 작업대에 로딩하기 전에 2ml 검체 튜브(ST)(스커트 없음, 키트와 함께 제공)에 100, 200 또는 400µl 검체를 옮기십시오. 동결된 검체를 사용하는 경우, 실온에서 해동하여 실온이 되도록 하고, 볼텍싱하여 잘 혼합하십시오.

대변에서 바이러스/박테리아 핵산을 추출하는 경우 200µl 의 검체 용량이 권장됩니다. 검체 전처리 시 적절한 전처리 프로토콜을 참조하십시오.

① 키트와 함께 제공된 2ml 튜브(ST)(스커트 없음)만 사용하십시오.

① 바이러스 핵산 또는 박테리아 DNA 의 수율을 크게 저하시킬 수 있으므로 해동된 검체를 다시 냉동하거나 2~8°C 에서 6 시간 넘게 검체를 보관하지 마십시오.

❶ 응고된 검체 물질을 검체 튜브에 옮기지 마십시오. 그러면 절차가 중단되고 기기 사고가 발생할 가능성이 있습니다.

❷ 100, 200 또는 400 μ l 가 넘는 검체 용량을 사용하지 마십시오. 용해 및 바이러스 핵산 또는 박테리아 DNA 의 자성 입자 결합 후 약간의 용해물이 검체 튜브(ST)에 옮겨집니다. 검체 튜브(ST)에 남은 검체 물질을 재사용하지 마십시오.

3. EZ1 Advanced DSP Virus Card 를 EZ1 Advanced 의 EZ1 Advanced Card 슬롯에 또는 EZ1 Advanced XL DSP Virus Card 를 EZ1 Advanced XL 의 EZ1 Advanced XL Card 슬롯에 완전히 삽입▲하거나 ■ EZ1 DSP Virus Card 를 BioRobot EZ1 DSP 의 EZ1 Card 슬롯에 완전히 삽입하십시오.

4. EZ1 기기 스위치를 켜십시오.

전원 스위치는 기기 좌측 후면에 위치해 있습니다.

5. EZ1 DSP Virus 프로토콜의 작업대 설정을 시작하려면 START(시작)를 누르십시오.

6. 작업대 설정, 프로토콜 변수 선택, ▲ 데이터 추적에 대한 화면상 지침을 따르십시오.

❸ 기기에 장착하여 장기간 보관하면 증발이 발생할 수 있으므로 작업대에 검체를 배치한 후 즉시 프로토콜을 시작하십시오.

7. 기기 도어를 여십시오.

8. 자성 입자와 혼합되도록 시약 카트리지(RCV)를 4 회 뒤집으십시오.

9. 시약 카트리지를 카트리지 랙에 로드하고, 제자리에 딸각하고 끼워질 때까지 카트리지를 아래로 누르십시오.

❹ 시약 카트리지(RCV)가 6 개(BioRobot EZ1 DSP, EZ1 Advanced) 또는 14 개(EZ1 Advanced XL) 미만인 경우, 랙에 어떤 순서로든 로드할 수 있습니다. 그러나, 다른 랩웨어를 로드하는 경우 동일한 순서에 따르도록 하십시오.

❺ ▲: 데이터 추적 시 항상 EZ1 Advanced 의 위치 A 및 EZ1 Advanced XL 의 위치 1 에서 검체 로딩을 시작하십시오. 나머지 검체를 작업대의 다음 빈 위치에 연속적으로 배치하십시오.

- ① ▲: 데이터 추적 옵션을 사용하는 경우 데이터가 섞이는 것을 방지하기 위해 검체 ID 가 작업대 위 검체와 같은 순서를 따르도록 하십시오.

10. 각 RCV 의 웰 11 에 빈 2ml 튜브(ST)(스커트 없음, 키트와 함께 제공)를 배치하십시오.

- ① 빈 검체 튜브(ST)가 뚜껑 없이 로드되도록 하십시오.
빈 튜브는 프로토콜의 용해 단계에 필요합니다.

11. 추가 작업대 설정에 대한 화면상 지침을 따르십시오.

용출 튜브, 팁 및 팁 홀더, CARRIER(Internal Control, IC) 튜브 그리고 검체 튜브 준비가 필요합니다.

- ① 팁과 팁 홀더를 준비할 때 장갑을 끼고 팁 상부 부분만 만지십시오.

- ① 용출 튜브(ET, 1.5ml 튜브)가 뚜껑 없이 로드되도록 하십시오.

- ① 검체 튜브가 9 단계에서 선택한 대로 올바른 위치에 로드되었는지 확인하십시오.

선택사항: 검체 ID 및 방향을 추적하려면 “부록 C: EZ1 DSP Virus 시스템에 사용하는 검체 시트”의 템플릿을 사용하십시오.

- ① 검체 튜브가 뚜껑 없이 로드되도록 하십시오.

- ① 검체 튜브에 올바른 용량의 검체 물질이 포함되도록 하십시오.

- ① 검체 상부에 또는 검체 튜브 가장자리에 거품이나 방울이 형성되는 것을 방지하십시오.

- ① 기기에 장착하여 장기간 보관하면 증발이 발생할 수 있으므로 작업대에 검체를 배치한 후 즉시 프로토콜을 시작하십시오.

12. 기기에 준비된 카트리리지 랙 및 팁 랙을 로드하십시오.

- ① 다른 기기간에 카트리리지 랙과 팁 랙을 교환하지 마십시오.

13. 기기 도어를 닫으십시오.

14. START(시작)를 눌러 프로토콜을 시작하십시오.

15. 프로토콜이 종료되면 디스플레이에 “Protocol finished(프로토콜이 완료되었습니다)”가 표시됩니다.

▲ ENT(엔터)를 눌러 보고서 파일을 생성하십시오.

▲ EZ1 Advanced 및 EZ1 Advanced XL 은 최대 10 개의 보고서 파일을 저장할 수 있습니다. 보고서는 연결된 프린터로 직접 인쇄하거나 컴퓨터로 전송할 수 있습니다.

16. 기기 도어를 열고, 팁 랙을 조심스럽게 꺼낸 후 벤치에 배치하십시오.

17. 1 열에서 정제된 바이러스 핵산 및/또는 박테리아 DNA 를 함유한 용출 튜브(ET)를 꺼내십시오. 단일 용출 튜브를 꺼내는 동안 다른 튜브를 건드리지 마십시오. 키트와 함께 제공되는 뚜껑이 있는 ET 를 닫으십시오.

❗ 실행이 마무리된 후 작업대에서 용출물을 즉시 꺼내 보관하십시오.

18. 검체 준비 폐기물을 폐기하십시오. * 팁 홀더와 팁 그리고 CARRIER(Internal Control, IC) 튜브를 폐기하십시오.

19. 카트리지를 랙을 꺼내 웰 11 에서 RCV 와 튜브를 폐기하십시오.

❗ 폐기물 폐기에 대한 현지 안전성 규정에 따라 진행하십시오(또한 12 페이지 “경고 및 예방조치” 참조).

20. ▲ 권장사항: 화면상 지침에 따라 작업대 표면의 UV 오염 제거를 수행하십시오.

21. EZ1 기기와 함께 제공되는 사용자 설명서에 설명된 대로 정규 유지관리 절차(예를 들어 UV 조사)를 수행하십시오.

정규 유지관리는 각 프로토콜 실행 종료 시 수행해야 합니다. 이는 천공 유닛 및 작업대 표면 청소로 이루어집니다.

❗ 천공 유닛은 날카롭습니다! 장갑 두 개를 사용하는 것이 좋습니다.

❗ 추가 유지관리 절차는 *EZ1 Advanced XL 사용자 설명서*를 참조하십시오.

* 검체 폐기물에는 구아니딘염이 들어 있으므로 표백제와 함께 사용할 수 없습니다. 경고 및 예방조치는 12 페이지를 참조하십시오.

22. 다른 프로토콜을 실행하려면 START(시작)를 누르고 프로토콜의 1 및 2 단계를 수행한 후 5 단계의 프로토콜을 따르십시오. 또는 STOP(중지)을 두 번 눌러 디스플레이의 첫 화면으로 돌아가고, 기기 도어를 닫고, EZ1 기기 스위치를 끄십시오.

다른 프로토콜을 실행하는 경우 3 및 4 단계는 필요하지 않습니다. 해당 단계를 건너뛰십시오.

품질 관리

QIAGEN의 ISO 인증 품질 관리 시스템에 따라 각 EZ1 DSP Virus Kit 로트는 제품 품질의 일관성을 보장하기 위해 사전 결정된 사양에 대해 검사됩니다.

제한 사항

QIAGEN 성능 평가 연구에서 다루어지지 않았으나 실험실에서 사용되는 모든 절차에 대해 시스템 성능을 검증하는 것은 사용자의 책임입니다.

시스템 성능은 혈장, 혈청, CSF, 대변, UTM 에서 채취한 비인두 도말을 사용하여 바이러스 핵산 및 박테리아 DNA 의 분리와 예시 다운스트림 공정에 대한 성능 평가에서 확립되었습니다. 전체 성능은 다운스트림 공정에 크게 좌우되므로, 검체 준비 및 특정 다운스트림 공정을 비롯하여 전체 진단 작업 흐름의 성능을 검증하는 것은 사용자의 책임입니다.

진단 결과에 부정적인 영향을 미칠 수 있는 위험을 최소화하려면 다운스트림 공정에 적절한 대조물질을 사용해야 합니다. 추가적인 검증을 위해서는 *ICH Q2(R1) 분석 절차 검증: 텍스트 및 방법론(ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology)*에 있는 의약품국제조화회의(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements, ICH)의 지침이 권장됩니다.

생성된 모든 진단 결과는 다른 임상 또는 실험실 결과와 함께 해석해야 합니다.

성능 특징

해당 성능 특징은 www.qiagen.com 의 제품 페이지 리소스 탭에서 확인할 수 있습니다.

문제 해결 가이드

이 문제 해결 가이드는 발생 가능한 문제를 해결하는 데 도움을 줄 수 있습니다. 더 자세한 정보는 또한 당사 기술 지원 센터의 자주 묻는 질문(Frequently Asked Questions, FAQ) 페이지를 참조하십시오. www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. QIAGEN 기술 서비스 소속 과학자들은 본 안내서의 정보 및/또는 프로토콜 또는 검체 및 분석 기술에 대해 가질 수 있는 어떠한 질문이든 기꺼이 답변해 드립니다(연락처 정보는 www.qiagen.com 을 방문하십시오).

의견 및 제안

일반 취급

- | | |
|--|--|
| a) 기기 디스플레이의 오류 메시지 | EZ1 또는 EZ2 기기와 함께 제공되는 사용자 설명서를 참조하십시오. |
| b) 보고서 파일이 인쇄되지 않음(EZ1의 경우) | 프린터가 "PC/Printer(PC/프린터)" 직렬 포트에 EZ1 Advanced 또는 EZ1 Advanced XL에 연결되어 있는지 확인하십시오.
직렬 포트가 프린터에 사용하도록 설정되었는지 확인하십시오. |
| c) 보고서 파일이 PC에 전송되지 않음(EZ1의 경우) | PC가 "PC/Printer(PC/프린터)" 직렬 포트에 EZ1 Advanced 또는 EZ1 Advanced XL에 연결되어 있는지 확인하십시오.
직렬 포트가 PC에 사용하도록 설정되었는지 확인하십시오. |
| d) 잘못된 Q-카드 ID가 입력됨(EZ1의 경우) | Q-카드 ID 대신 잘못된 ID가 입력된 경우, EZ1 Advanced 또는 EZ1 Advanced XL은 ID를 수용하지 않고 올바른 ID가 입력될 때까지 Q-카드 ID에 대한 메시지를 표시합니다. STOP(중지)을 두 번 눌러 기본 메뉴로 이동하십시오. |
| e) 잘못된 Q-카드 ID가 입력됨(EZ2 Connect MDx의 경우) | Q-카드 ID 대신 잘못된 ID가 입력된 경우, EZ2 Connect MDx는 사용할 올바른 프로토콜을 표시하지 않습니다. 표시할 필수 프로토콜에 대한 올바른 Q-카드를 입력하십시오.

EZ2 Connect MDx는 로드 확인 중에 선택한 프로토콜 및 로드된 시약 카트리지가 맞는지 확인합니다. 잘못된 Q-카드 ID로 인해 잘못된 프로토콜이 선택된 경우, 실행을 중단하고 처음부터 기기 실행 설정을 시작하십시오. |

의견 및 제안

낮은 바이러스 핵산 또는 박테리아 DNA 수율

- | | | |
|----|---|---|
| a) | 자성 입자가 완전히 재현탁되지 않음 | 시약 카트리리지(RCV)를 홀더에 로드하기 전에 자성 입자를 완전히 재현탁하십시오. |
| b) | 흡입된 시약이 부족함 | 시약 카트리리지(RCV)를 뒤집어 자성 입자를 재현탁한 후 RCV 시약이 웰 바닥에 가라앉도록 하십시오. |
| c) | 검체 튜브의 검체 용량이 잘못됨 | 검체 튜브에 정확한 검체 용량을 피펫팅하십시오. |
| d) | 옮겨진 검체량이 잘못됨(예상보다 더 적은 용량이 검체 튜브에 옮겨짐) | 실행 후 검체 튜브가 거의 비었는지 확인하십시오. 선택 및 제공된 검체 용량이 일치했는지 확인하십시오. 튜브에 남은 검체 물질에 덩어리나 침전물이 있는지 확인하십시오. 피펫터 O 링의 윤활 상태를 확인하십시오(매주 유지관리). |
| e) | 작업대에 로드되는 시약 순서가 잘못되었습니다 | 모든 튜브(ET, ST) 및 팁(DFT)이 있는 팁 홀더(DTH)가 올바른 순서로 작업대에 로드되었는지 확인하십시오. 새 검체로 정제 절차를 반복합니다. |
| f) | 운반체 RNA(CARRIER)가 추가되지 않음 | 310µl 용출 완충액(AVE)에 동결건조된 운반체 RNA(CARRIER)를 재구성하십시오. 각 검체의 경우, 35~36 페이지 “운반체 RNA(CARRIER) 준비” 및 “내부 대조물질(Internal Control, IC) 사용” 섹션에 기술된 대로 이 운반체 RNA(CARRIER) 저장 용액 3.6µl 를 내부 대조물질(Internal Control, IC)(선택 사항) 및 추가 용출 완충액(AVE)과 혼합하여 최종 용량 60µl 로 사용하십시오. 새 검체로 정제 절차를 반복합니다. |
| g) | 운반체 RNA(CARRIER) 및 용출 완충액(AVE)이 충분히 혼합되지 않음 | 최소 10 회 피펫팅하여 운반체 RNA(CARRIER), 내부 대조물질(Internal Control, IC)(선택 사항) 및 용출 완충액(AVE)을 혼합하십시오. |
| h) | RNA 분해 | RNA 는 원 검체의 RNase 로 인해 열화된 상태일 수 있습니다. 검체는 채취 또는 보관품을 꺼내는 즉시 처리하여야 합니다. |

의견 및 제안

RNA 또는 DNA 가 다운스트림 공정에서 제대로 기능하지 못합니다

- | | |
|--|--|
| a) 용출물 내 핵산이 매우 적거나 없음 | 가능한 사유는 57 페이지의 “낮은 바이러스 핵산 또는 박테리아 DNA 수율” 섹션을 참조하십시오. 가능하다면 다운스트림 효소 반응에 추가하는 용출물 양을 늘리십시오. |
| b) 냉동 검체가 해동 후 제대로 혼합되지 않았음 | 실온(15~25°C)에서 냉동 검체를 해동하고 15 초 동안 펄스-볼텍싱하여 혼합하십시오. |
| c) 검체의 핵산이 정제 이전에 이미 변성되었음 | 이는 검체가 한 번 해동된 후 다시 동결되었거나 실온에 너무 오래 보관된 경우 발생할 수 있습니다. 항상 신선 검체 또는 한 번만 해동된 검체를 사용하십시오. 새 검체로 정제 절차를 반복합니다. |
| d) 검체의 불충분한 용해 | 이는 시약 카트리지(RCV)가 너무 오래 고온에 보관된 경우 발생할 수 있으며, 단백질 가수분해효소 K 비활성화를 유발할 수 있습니다. 새로운 검체 및 시약 카트리지(RCV)를 사용하여 정제 절차를 반복하십시오. |
| e) 용출 동안 염 캐리오버 발생 | 최고의 결과를 위해 시약 카트리지(RCV)가 20~30°C 인지 확인하십시오. |
| f) 용출물의 운반체 RNA(CARRIER)가 너무 많거나 너무 적음 | 증폭 반응에 적합한 운반체 RNA(CARRIER)의 최대 양을 결정하십시오. 운반체 RNA(CARRIER) 용액 농도를 조정하십시오. |
| g) 증폭 반응의 과도한 용출물 | 증폭 반응에 적합한 용출물의 최대 용량을 결정하십시오. 그에 따라 증폭 반응에 더해지는 용출물 용량을 줄이거나 용출량을 늘리십시오. 원하는 경우 양성 대조물질을 용출물에 스파이크하여 증폭에 대한 용출물 영향을 확인할 수 있습니다. |
| h) 다운스트림 분석에서 정제된 핵산 성능이 달라짐 | 카트리지(RCV)에서 세척 완충액 1 또는 세척 완충액 2의 염 및 에탄올 구성요소가 장기 보관으로 인해 분리될 수 있습니다. 항상 카트리지(RCV)를 완전히 뒤집어 RCV의 시약이 웰 바닥에 가라앉도록 하십시오. |

의견 및 제안

- i) 억제성 물질로 인해 민감도가 떨어짐
- 용출량을 높이십시오. 원하는 경우 양성 대조물질을 용출물에 스파이크하여 증폭에 대한 용출량의 영향을 확인할 수 있습니다.
- 대변 검체에서 얻은 용출액이 탁한 경우, 최대 속도(20,000 x g)로 3 분 동안 원심분리하여 맑은 용출액을 얻는 것이 좋습니다. 이는 맑은 용출물에 부정적인 영향을 미치지 않으며, 다운스트림 공정에서 탁한 용출물의 성과를 개선합니다. 원심분리 후 펠렛을 건드리지 않으면서 용출물을 새로운 튜브에 옮기십시오.
- j) 역전사 효소 및 *Taq* DNA 중합효소의 새로운 조합
- 효소가 변경되는 경우, 용출 완충액(AVE)에 추가되는 운반체 RNA(CARRIER)의 양 및 사용하는 용출물의 양을 재조정해야 할 수 있습니다.
- k) 자성 입자 캐리오버
- 용출물 내 자성 입자 캐리오버는 RT-PCR 을 포함하여 대부분 다운스트림 공정에 영향을 주지 않습니다. 자성 입자 캐리오버 위험을 줄여야 하는 경우(예: *real-time* PCR 등 공정의 경우), 먼저 1 분 동안 적합한 자기 분리기에 용출물이 포함된 튜브를 배치한 후 깨끗한 튜브에 용출물을 옮기십시오. 적합한 자석이 없으면, 용출물을 포함하는 튜브를 마이크로 원심분리기에서 1 분간 최고 속도로 원심분리하여 남은 자성 입자를 펠렛화하여 상층액을 깨끗한 튜브로 옮기십시오.

기호

사용 설명서 또는 포장물 및 라벨에 다음과 같은 기호가 표시됩니다.

기호	기호 정의
 <N>	<N>회 반응에 충분한 시약 포함
	사용 기한
	이 제품은 체외 진단 의료 기기에 대한 유럽 규정 2017/746 의 요구 사항을 충족합니다.
	체외 진단용 의료 기기
	카탈로그 번호
	로트 번호
	재료 번호(즉, 구성품 라벨)
	의료기기 고유식별코드
	구성품

기호

기호 정의

	내용물
	수
	용량
	국제 거래 단위 번호
Rn	R 은 사용 설명서의 개정 버전을 나타내며, n 은 개정 번호입니다
	온도 제한
	주소/법적 제조업체
	중요 참고사항
	사용 설명서 참조
	직사광선을 피할 것

기호

기호 정의



경고/주의

USE

다음과 함께만 사용

REAG **CART** **VIRUS**

RCV:시약 카트리지 바이러스

CAR **RNA**

CARRIER:운반체 RNA

ELU **BUF**

AVE:용출 Buffer AVE

DISP **FILT** **TIP**

DFT:일회용 필터 팁

DISP **TIP** **HOLD**

DTH: 일회용 팁 홀더

SAMP **TUBE**

ST:검체 튜브

ELU **TUBE**

ET:용출 튜브

GITC

구아니딘 이소티오시아네이트

G_uHCl

염산 구아니딘

EtOH

에탄올

IPA

이소프로판올

기호

기호 정의

LiCl

염화 리튬

PROTK

단백질 가수분해효소 K



열 때 이 면이 바닥을 향하게

연락처 정보

기술 지원 및 자세한 정보는 www.qiagen.com/Support 에서 기술 지원 센터를 참조하여 00800-22-44-6000 으로 전화하거나 QIAGEN 기술 서비스 부서 또는 현지 유통업체에 연락하십시오(뒷표지를 참조하거나 www.qiagen.com 를 방문하시기 바랍니다).

부록 A: EZ1/EZ2 기기의 디스플레이 메시지

작업대 설정 중, 프로토콜 실행 중, 프로토콜 실행 후 EZ1 기기의 소프트웨어 프로토콜에 의해 표시되는 메시지는 표 2~표 4 에 나열되어 있습니다. 표에 나열된 메시지 수는 소프트웨어에서 표시하는 메시지 수에 해당합니다.

EZ1 기기 디스플레이에 표시되는 일반 오류 메시지는 EZ1 기기와 함께 제공되는 사용자 설명서를 참조하십시오.

EZ2 Connect MDx 기기에 표시되는 일반 오류 메시지는 각 사용자 설명서를 참조하십시오. 문제 해결 지원에 대해 QIAGEN 기술 서비스에 문의하십시오.

표 2. EZ1 Advanced XL DSP Virus 절차 메시지

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced XL 메시지 문구
없음	지침	Date/time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: (날짜/시간 시작: 실행 1: UV 2: Man 3: 검사 4: 설정) 설정
1	지침	EZ1 Advanced XL DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced XL DSP Virus 버전 1.0)
2	데이터 추적	Enter user ID ENT: Next (사용자 ID 를 입력하십시오 ENT: 다음)

다음 페이지에서 표 계속.

표 2. EZ1 Advanced XL DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced XL 메시지 문구
3	데이터 추적	Enter Q-Card bar code ENT: Next (Q-카드 바코드를 입력하십시오 ENT: 다음)
4	지침	Wrong kit! Please load EZ1 DSP Virus Kit ENT: Back (잘못된 키트입니다! EZ1 DSP Virus Kit 를 로드하십시오 ENT: 뒤로가기)
5	지침	Kit expired MMYY ENT: Use new kit ESC: Stop protocol (키트가 만료되었습니다 년/월 ENT: 프로토콜 중지)
6	데이터 추적	Use Q-Card data with sample 1 to xx Enter 1 to 14 ENT: Next (검체 1~xx 에 Q-카드 데이터를 사용하십시오 1~14 를 입력하십시오 ENT: 다음)
7	지침	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: no (다른 키트 로트로 더 많은 검체를 처리하시겠습니까? ENT: 예, ESC: 아니요)

다음 페이지에서 표 계속.

표 2. EZ1 Advanced XL DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced XL 메시지 문구
8	데이터 추적	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No (검체 ID 를 추가하시겠습니까?) ENT: 예 ESC: 아니요)
9	데이터 추적	Enter sample ID for sample no. [x] ENT: Next (검체 ID 를 입력하십시오) ENT: 다음)
10	데이터 추적	Do you want to check sample IDs? ENT: Yes ESC: No (검체 ID 를 확인하시겠습니까?) ENT: 예 ESC: 아니요)
11	데이터 추적	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next (ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: 다음)
12	데이터 추적	ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: Next, UP: Back (ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: 다음 UP: 뒤로가기)

다음 페이지에서 표 계속.

표 2. EZ1 Advanced XL DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced XL 메시지 문구
13	데이터 추적	ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: Next, UP: Back (ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: 다음 UP: 뒤로가기)
14	데이터 추적	ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Next, UP: Back (ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: 다음 UP: 뒤로가기)
15	데이터 추적	ID 13: ID 14: ESC: Rescan DOWN: Next, UP: Back (ID 13: ID 14: ESC: 재스캔 DOWN: 다음, UP: 뒤로가기)
16	데이터 추적	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No (분석 정보를 추가하시겠습니까? ENT: 예 ESC: 아니요)
17	데이터 추적	Enter assay ID for sample no. [x] ENT: Next (검체 번호 [x]에 대한 분석 ID 를 입력하십시오 ENT: 다음)
18	데이터 추적	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No (분석 ID 를 확인하시겠습니까? ENT: 예 ESC: 아니요)

다음 페이지에서 표 계속.

표 2. EZ1 Advanced XL DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced XL 메시지 문구
19	데이터 추적	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No (참고를 추가하시겠습니까?) ENT: 예 ESC: 아니요)
20	데이터 추적	Enter notes for sample no. [x] ENT: Next (검체 번호 [x]에 대한 참고를 입력하십시오) ENT: 다음)
21	데이터 추적	Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No (참고를 확인하시겠습니까?) ENT: 예 ESC: 아니요)
22	선택	Select sample volume: 1: 100µl 2: 200µl 3: 400µl (검체 용량을 선택하십시오) 1: 100µl 2: 200µl 3: 400µl)
23	선택	Select elution volume: 1: 60µl 2: 90µl 3: 120µl 4: 150µl (용출 용량을 선택하십시오) 1: 60µl 2: 90µl 3: 120µl 4: 150µl)

다음 페이지에서 표 계속.

표 2. EZ1 Advanced XL DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced XL 메시지 문구
24	지침	You have chosen: Sample volume: xxxµl Elution volume:yyyµl ENT: Next, ESC: Back (다음과 같이 선택하셨습니다) 검체 용량: xxxµl 용출 용량: yyyµl ENT: 다음 ESC: 뒤로가기)
25	지침	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back (카트리지를 검체와 동일한 위치에 로드하십시오) ENT: 다음 ESC: 뒤로가기)
26	지침	Load empty 2 ml tubes into heating block ENT: Next, ESC: Back (빈 2ml 튜브를 가열 블록에 로드하십시오) ENT: 다음 ESC: 뒤로가기)
27	지침	Load elution tubes (1.5 ml) into first row ENT: Next, ESC: Back (첫 번째 열에 용출 튜브(1.5ml)를 로드하십시오) ENT: 다음 ESC: 뒤로가기)
28	지침	Load tip holders and tips into second row ENT: Next, ESC: Back (두 번째 열에 팁 홀더와 팁을 로드하십시오) ENT: 다음 ESC: 뒤로가기)
29	지침	Load 1.5 ml tubes containing cRNA and IC into third row ENT: Next, ESC: Back (세 번째 열에 cRNA 와 IC 를 함유한 1.5ml 튜브를 로드하십시오) ENT: 다음 ESC: 뒤로가기)
30	지침	Load 2 ml tubes with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back (네 번째 열에 검체를 함유한 2ml 튜브를 로드하십시오) ENT: 다음 ESC: 뒤로가기)

다음 페이지에서 표 계속.

표 2. EZ1 Advanced XL DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced XL 메시지 문구
31	지침	Loading finished Close door and press START ESC: Back (로딩이 완료되었습니다 도어를 닫고 START(시작)를 누르십시오 ESC: 뒤로가기)
32	지침	Please close door! ENT: Next (도어를 닫으십시오! ENT: 다음)
33	지침	Checking temperature Set: Cur: (온도 확인 설정: 현재:)
34	상태	Protocol started (프로토콜이 시작되었습니다)
35	상태	Piercing foil [x] of 43 min left (포장지 뚫는 중 43 분 중 [x]분 남음)
36	상태	Collecting elution buffer AVE [x] of 43 min left (용출 완충액 AVE 수집 중 43 분 중 [x]분 남음)
37	상태	Collecting cRNA + IC [x] of 43 min left (cRNA + IC 수집 중 43 분 중 [x]분 남음)

다음 페이지에서 표 계속.

표 2. EZ1 Advanced XL DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced XL 메시지 문구
38	상태	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (용해 완충액 수집 중 43 분 중 [x]분 남음)
39	상태	Collecting Sample [x] of 43 min left (검체 수집 중 43 분 중 [x]분 남음)
40	상태	Collecting Proteinase K [x] of 43 min left (단백질 가수분해효소 K 수집 중 43 분 중 [x]분 남음)
41	상태	Mixing lysate [x] of 43 min left (용해물 혼합 중 43 분 중 [x]분 남음)
42	상태	15 min Incubation [x] of 43 min left (15 분 배양 43 분 중 [x]분 남음)
43	상태	Tip touch [x] of 43 min left (팁 터치 43 분 중 [x]분 남음)
44	상태	Collecting Binding Buffer [x] of 43 min left (결합 완충액 수집 중 43 분 중 [x]분 남음)

다음 페이지에서 표 계속.

표 2. EZ1 Advanced XL DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced XL 메시지 문구
45	상태	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (용해 완충액 수집 중 43 분 중 [x]분 남음)
46	상태	Collecting Beads [x] of 43 min left (비드 수집 중 43 분 중 [x]분 남음)
47	상태	Resuspending Beads in Binding Buffer [x] of 43 min left (결합 완충액 내 비드 재현탁 중 43 분 중 [x]분 남음)
48	상태	Transferring Lysate [x] of 43 min left (용해물 옮기는 중 43 분 중 [x]분 남음)
49	상태	Binding Magnetic Separation [x] of 43 min left (결합자기 분리 43 분 중 [x]분 남음)
50	상태	Wash 1 Magnetic Separation [x] of 43 min left (세척 1 자기 분리 43 분 중 [x]분 남음)
51	상태	Wash 2 Magnetic Separation [x] of 43 min left (세척 2 자기 분리 43 분 중 [x]분 남음)

다음 페이지에서 표 계속.

표 2. EZ1 Advanced XL DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced XL 메시지 문구
52	상태	Wash 3 Magnetic Separation [x] of 43 min left (세척 3 자기 분리 43 분 중 [x]분 남음)
53	상태	Drying Beads [x] of 43 min left (비드 건조 43 분 중 [x]분 남음)
54	상태	Rinse [x] of 43 min left (헹굼 43 분 중 [x]분 남음)
55	상태	Elution [x] of 43 min left (용출 43 분 중 [x]분 남음)
56	지침	Check transfer of cRNA + IC (row 3) ENT: Next (cRNA + IC(3 열) 이동을 확인하십시오 ENT: 다음)
57	지침	Check transfer of sample (row 4) ENT: Next (검체(4 열) 이동을 확인하십시오 ENT: 다음)
58	지침	Protocol finished ENT: Next (프로토콜이 완료되었습니다 ENT: 다음)

다음 페이지에서 표 계속.

표 2. EZ1 Advanced XL DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced XL 메시지 문구
59	데이터 추적	Transferring report file Attempt no. (보고서 파일 전송 시도 횟수)
60	없음	
없음	지침	Report file sent Print out o.k.? 1: o.k. 2: not o.k. (보고서 파일 전송 인쇄하시겠습니까? 1: 네 2: 아니요)
61	지침	Report file sent ENT: Next (보고서 파일 전송 ENT: 다음)
62	지침	Report file could not be sent ENT: Resend (보고서 파일을 전송할 수 없습니다 ENT: 재전송)
63	지침	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No (UV 실행을 수행하시겠습니까? ENT: 예 ESC: 아니요)
64	지침	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next (작업대에서 용출물과 소모품을 제거하십시오 ENT: 다음)

다음 페이지에서 표 계속.

표 2. EZ1 Advanced XL DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced XL 메시지 문구
65	지침	UV decontamination: Enter 20-60 min ENT: Next (UV 오염 제거: 20~60 분을 입력하십시오) ENT: 다음)
66	지침	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back (UV 오염 제거 시간은 20~60 분 사이여야 합니다) ENT: 뒤로가기)
67	지침	UV decontamination Total time: min Time left: min (UV 오염 제거 총 시간: 분 남은 시간: 분)
68	지침	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu (각 실행 후 정기 유지관리를 수행하십시오) ESC: 기본 메뉴)
69	지침	UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next (UV 램프가 곧 만료됩니다) 남은 UV 실행: ENT: 다음)
70	지침	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort (UV 램프가 만료되었습니다) ENT: 다음 ESC: 중단)

다음 페이지에서 표 계속.

표 2. EZ1 Advanced XL DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced XL 메시지 문구
71	지침	Decontamination UV lamps cooling Please stand by (오염 제거 UV 램프 식히는 중 기다려 주십시오)
72	지침	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu (각 실행 후 정기 유지관리를 수행하십시오 ESC: 기본 메뉴)

표 3. EZ1 Advanced DSP Virus 절차 메시지

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced 메시지 문구
없음	지침	Date/Time START:Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4 (날짜/시간 START(시작): 실행 1: UV 2: Man 3: 검사 4: 설정 키: 시작, 1, 2, 3, 4)
1	지침	EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced DSP Virus 버전 1.0)
2	데이터 추적	Scan/enter user ID (사용자 ID 스캔/입력)
3	데이터 추적	Scan/enter Q-Card barcode (Q-카드 바코드 스캔/입력)

다음 페이지에서 표 계속.

표 3. EZ1 Advanced DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced 메시지 문구
4	지침	Wrong kit! Please load EZ1 DSP Virus Kit ENT=back (잘못된 키트입니다! ENT=뒤로가기)
5	지침	Kit expired ENT: Use new kit ESC: Stop protocol (키트가 만료되었습니다 ENT: 새로운 키트 사용 ESC: 프로토콜 중지)
6	데이터 추적	Use Q-Card data with sample no. 1 to Enter 1 to 6 (검체 1~6에 Q-카드 데이터를 사용하십시오 1~6 을 입력하십시오)
7	지침	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: no (다른 키트 로트로 더 많은 검체를 처리하시겠습니까? ENT: 예, ESC: 아니요)
8	데이터 추적	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No (검체 ID 를 추가하시겠습니까? ENT: 예 ESC: 아니요)
9	데이터 추적	Scan/enter sample ID sample no. [x] (검체 ID 를 스캔/입력하십시오 검체 번호 [x])
10	데이터 추적	ID1: ID2: ID3: Next=ENT (ID1: ID2: ID3: 다음=ENT)

다음 페이지에서 표 계속.

표 3. EZ1 Advanced DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced 메시지 문구
11	데이터 추적	ID4: ID5: ID6: Next=ENT, ID1-3=Up (ID4: ID5: ID6: 다음=ENT, ID1~3=Up)
12	데이터 추적	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No (분석 정보를 추가하시겠습니까? ENT: 예 ESC: 아니요)
13	데이터 추적	Scan/enter assay ID ID sample no. [x] (분석 ID 스캔/입력 ID 검체 번호 [x])
14	데이터 추적	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No (참고를 추가하시겠습니까? ENT: 예 ESC: 아니요)
15	데이터 추적	Scan/enter notes sample no. [x] (참고를 스캔/입력하십시오 검체 번호 [x])
16	지침	Select sample volume: 1: 100µl 2: 200µl 3: 400µl (검체 용량을 선택하십시오 1: 100µl 2: 200µl 3: 400µl)

다음 페이지에서 표 계속.

표 3. EZ1 Advanced DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced 메시지 문구
17	지침	Select elution volume: 1: 60µl 2: 90µl 3: 120µl 4: 150µl (용출 용량을 선택하십시오 1: 60µl 2: 90µl 3: 120µl 4: 150µl)
18	지침	You have chosen: Sample volume: [xxx]µl Elution volume: [yyy]µl Next=Any, Prev=Esc (다음과 같이 선택하셨습니다 검체 용량: [xxx]µl 용출 용량: [yyy]µl 다음=모두, 이전=Esc)
19	지침	Load cartridges at same positions as sample Next=Any, Prev=Esc (카트리지를 검체와 동일한 위치에 로드하십시오 다음=모두, 이전=Esc)
20	지침	Load empty 2.0 ml tubes at heating block Next=Any, Prev=Esc (가열 블록에 빈 2.0ml 튜브를 로드하십시오 다음=모두, 이전=Esc)
21	지침	Load elution tubes (1.5 ml) into first row Next=Any, Prev=Esc (첫 번째 열에 용출 튜브(1.5ml)를 로드하십시오 다음=모두, 이전=Esc)
22	지침	Load tip holders and tips into second row Next=Any, Prev=Esc (두 번째 열에 팁 홀더와 팁을 로드하십시오 다음=모두, 이전=Esc)

다음 페이지에서 표 계속.

표 3. EZ1 Advanced DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced 메시지 문구
23	지침	Load 1.5 ml tubes containing cRNA and IC in third row Next=Any, Prev=Esc (세 번째 열에 cRNA 및 IC 를 함유한 1.5ml 튜브를 로드하십시오) 다음=모두, 이전=Esc)
24	지침	Load 2.0 ml tubes with sample in fourth row Next=Any, Prev=Esc (네 번째 열에 검체를 함유한 2.0ml 튜브를 로드하십시오) 다음=모두, 이전=Esc)
25	지침	Loading finished. Close door and press START Prev=Esc (로딩이 완료되었습니다.) 도어를 닫고 START(시작)를 누르십시오 이전=Esc)
26	지침	Please close door! (도어를 닫으십시오!)
27	지침	Checking temperature Set: Cur: (온도 확인 설정: 현재:)
28	상태	Protocol started (프로토콜이 시작되었습니다)
29	상태	Piercing foil (포장지 뚫는 중)
30	상태	Collecting Elution Buffer AVE (용출 완충액 AVE 수집 중)
31	상태	Collecting cRNA + IC (cRNA + IC 수집 중)

다음 페이지에서 표 계속.

표 3. E21 Advanced DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	E21 Advanced 메시지 문구
32	상태	Collecting Lysis Buffer (용해 완충액 수집 중)
33	상태	Collecting Sample (검체 수집 중)
34	상태	Collecting Proteinase K (단백질 가수분해효소 K 수집 중)
35	상태	Mixing Lysate (용해물 혼합 중)
36	상태	15 min Incubation [x] of 43 min left (15 분 배양 43 분 중 [x]분 남음)
37	상태	Kick [x] of 43 min left (Kick 43 분 중 [x]분 남음)
38	상태	Collecting Binding Buffer [x] of 43 min left (결합 완충액 수집 중 43 분 중 [x]분 남음)
39	상태	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (용해 완충액 수집 중 43 분 중 [x]분 남음)
40	상태	Collecting Beads [x] of 43 min left (비드 수집 중 43 분 중 [x]분 남음)

다음 페이지에서 표 계속.

표 3. EZ1 Advanced DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced 메시지 문구
41	상태	Resuspension of Beads in Binding Buffer [x] of 43 min left (결합 완충액 내 비드 재현탁 43 분 중 [x]분 남음)
42	상태	Transferring Lysate [x] of 43 min left (용해물 옮기는 중 43 분 중 [x]분 남음)
43	상태	Binding Magnetic Separation [x] of 43 min left (결합 자기 분리 43 분 중 [x]분 남음)
44	상태	Wash 1 Magnetic Separation [x] of 43 min left (세척 1 자기 분리 43 분 중 [x]분 남음)
45	상태	Wash 2 Magnetic Separation [x] of 43 min left (세척 2 자기 분리 43 분 중 [x]분 남음)
46	상태	Wash 3 Magnetic Separation [x] of 43 min left (세척 3 자기 분리 43 분 중 [x]분 남음)

다음 페이지에서 표 계속.

표 3. EZ1 Advanced DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced 메시지 문구
47	상태	Dry Beads [x] of 43 min left (비드 건조 43 분 중 [x]분 남음)
48	상태	Rinse [x] of 43 min left (행균 43 분 중 [x]분 남음)
49	상태	Elution [x] of 43 min left (용출 43 분 중 [x]분 남음)
50	지침	Check transfer of cRNA + IC (row 3) Next=Any (cRNA + IC(3 열) 이동을 확인하십시오 다음=모두)
51	지침	Check transfer of sample (row 4) Next=Any (cRNA + IC(4 열) 이동을 확인하십시오 다음=모두)
52	지침	Protocol finished (프로토콜이 완료되었습니다)
53	데이터 추적	Transfer Report file, attempt no. (보고서 파일 전송 시도 횟수)
54	지침	Report file sent Next=ENT (보고서 파일 전송 다음=ENT)
55	지침	Report file could not be sent (보고서 파일을 전송할 수 없습니다 재전송=ENT)

다음 페이지에서 표 계속.

표 3. EZ1 Advanced DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced 메시지 문구
56	지침	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No (UV 실행을 수행하시겠습니까?) ENT: 예 ESC: 아니요)
57	지침	UV decontamination Set time min Key:0-9, ENT (UV 오염 제거 설정 시간 분 키: 0~9, ENT)
58	지침	UV decontamination. Time must be between 20-60 min Key:ESC (오염 제거. 시간은 20~60 분 사이여야 합니다 키:ESC)
59	지침	UV decontamination Time left: min (UV 오염 제거 남은 시간: 분)
60	지침	Perform regular maintenance after each run ESC=Main menu (각 실행 후 정기 유지관리를 수행하십시오 ESC=기본 메뉴)
61	지침	UV lamp expires soon UV runs left: ENT=continue (UV 램프가 곧 만료됩니다 남은 UV 실행: ENT=계속)

다음 페이지에서 표 계속.

표 3. EZ1 Advanced DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	EZ1 Advanced 메시지 문구
62	지침	UV lamp is expired ENT=continue ESC=abort (UV 램프가 만료되었습니다 ENT=계속 ESC=중단)
63	지침	Decontamination UV lamp cooling Please stand by (오염 제거 UV 램프 식히는 중 기다려 주십시오)

표 4. BioRobot EZ1 DSP Virus 절차 메시지

메시지 번호	메시지 유형	BioRobot EZ1 DSP 메시지 문구
없음	지침	Date/Time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4 (날짜/시간 START(시작): 실행 1: UV 2: Man 3: 검사 4: 설정 키: 시작, 1, 2, 3, 4)
1	지침	EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced DSP Virus 버전 1.0)
2	데이터 추적	Scan/enter user ID (사용자 ID 스캔/입력)

다음 페이지에서 표 계속.

표 4. BioRobot EZ1 DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	BioRobot EZ1 DSP 메시지 문구
3	지침	Select elution volume: 1: 60µl 2: 90µl 3: 120µl 4: 150µl (용출 용량을 선택하십시오 1: 60µl 2: 90µl 3: 120µl 4: 150µl)
4	지침	You have chosen: Sample Volume:[sample volume]µl Elution Volume:[elution volume]µl Next=Any, Prev=ESC (다음과 같이 선택하셨습니다 검체 용량: [검체 용량]µl 용출 용량: [용출 용량]µl 다음=모두, 이전=ESC)
5	지침	Load cartridges (RCV) at same positions as samples Next=Any, Prev=ESC (카트리지(RCV)를 검체와 동일한 위치에 로드하십시오 다음=모두, 이전=ESC)
6	지침	Load empty 2.0 ml tubes (ST) at heating block Next=Any, Prev=ESC (가열 블록에 빈 2.0ml 튜브(ST)를 로드하십시오 다음=모두, 이전=ESC)
7	지침	Load elution tubes (ET) (1.5 ml) into first row Next=Any, Prev=ESC (첫 번째 열에 용출 튜브(ET)(1.5ml)를 로드하십시오 다음=모두, 이전=ESC)
8	지침	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=ESC (두 번째 열에 팁 홀더(DTH)와 팁(DFT)을 로드하십시오 다음=모두, 이전=ESC)

다음 페이지에서 표 계속.

표 4. BioRobot EZ1 DSP Virus 절차 메시지(계속)

Message number	메시지 유형	BioRobot EZ1 DSP 메시지 문구
9	지침	Load 1.5 ml tubes (ET) with (CARRIER) + IC in third row Next=Any, Prev=ESC (세 번째 열에 (CARRIER) + IC 를 함유한 1.5ml 튜브(ET)를 로드하십시오 다음=모두, 이전=ESC)
10	지침	Load 2.0 ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev=ESC (네 번째 열에 검체를 함유한 2.0ml 튜브(ST)를 로드하십시오 다음=모두, 이전=ESC)
11	지침	Start protocol Press START Prev=ESC (프로토콜을 시작하십시오 START(시작)를 누르십시오 이전=ESC)
12	상태	Checking Temperature Set: 63.0 [deg] Cur: [deg] (온도 확인 설정: 63.0[도] 현재: [도])
13	상태	Protocol started (프로토콜이 시작되었습니다)
14	상태	Piercing Foil (포장지 뚫는 중)
15	상태	Collecting Elution Buffer (AVE) (용출 완충액(AVE) 수집 중)
16	상태	Collecting cRNA (CARRIER) + IC (cRNA(CARRIER) + IC 수집 중)
17	상태	Collecting Lysis Buffer (용해 완충액 수집 중)

다음 페이지에서 표 계속.

표 4. BioRobot EZ1 DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	BioRobot EZ1 DSP 메시지 문구
18	상태	Collecting Sample (검체 수집 중)
19	상태	Collecting (수집 중)
20	상태	Mixing Lysate (용해물 혼합 중)
21	상태	Checking Temperature Set: 56.0 [deg] Cur: [deg] (온도 확인 설정: 56.0[도] 현재: [도])
22	상태	15 min Incubation (15 분 배양)
23	상태	Kick
24	상태	Collecting Binding Buffer (결합 완충액 수집 중)
25	상태	Collecting Lysis Buffer (용해 완충액 수집 중)
26	상태	Collecting Beads (비드 수집 중)
27	상태	Resuspension of Beads in Binding Buffer (결합 완충액 내 비드 재현탁)
28	상태	Transferring Lysate (용해물 옮기는 중)
29	상태	Binding Magnetic Separation (결합 자기 분리)
30	상태	Wash 1 Magnetic Separation (세척 1 자기 분리)

다음 페이지에서 표 계속.

표 4. BioRobot EZ1 DSP Virus 절차 메시지(계속)

메시지 번호	메시지 유형	BioRobot EZ1 DSP 메시지 문구
31	상태	Wash 2 Magnetic Separation (세척 2 자기 분리)
32	상태	Wash 3 Magnetic Separation (세척 3 자기 분리)
33	상태	Dry Beads (비드 건조)
34	상태	Kick
35	상태	Dry Beads (비드 건조)
36	상태	Kick
37	상태	Rinse
38	상태	Checking Temperature Set: 65.0 [deg] Cur: [deg] (온도 확인 설정: 65.0[도] 현재: [도])
39	상태	Elution (용출)
40	지침	Check transfer of cRNA (CARRIER)+ IC (tube [ET], row 3) Next=Any (cRNA(CARRIER)+ IC(튜브[ET], 3 열) 이동을 확인하십시오 다음=모두)
41	지침	Check transfer of sample (tube [ST], row 4) Next=Any (검체(튜브[ST], 4 열) 이동을 확인하십시오 다음=모두)
42	지침	Protocol finished! Press ESC to return to Menu (프로토콜이 완료되었습니다! ESC 를 눌러 메뉴로 돌아가십시오)

부록 B: 내부 대조물질(Internal Control, IC) 양 계산

검체 준비 및 다운스트림 분석의 효율성을 모니터링하려면 내부 대조물질(Internal Control, IC)을 검체 준비 과정에 추가해야 할 수 있습니다. EZ1 DSP Virus 프로토콜에 필요한 내부 대조물질(Internal Control, IC)의 양을 계산하려면, 검체당 첨가하는 IC 함유 완충액 용량 및 해당 분석에 대한 용출량을 고려해야 합니다.

다운스트림 용량에 사용될 내부 대조물질(Internal Control, IC) 용량 결정

해당 다운스트림 분석에 존재할 내부 대조물질(Internal Control, IC) 용량을 결정하려면 다음 공식을 사용하십시오.

$$IC_{RXN} = \frac{IC_{LB} \times LB_{SAM} \times EL_{RXN}}{(LB_{TOT} + IC_{LB}) \times EL_{SAM}}$$

여기에서:

IC_{RXN} = 다운스트림 반응당 내부 대조물질(Internal Control, IC) 용량

IC_{LB} = 용해 완충액(LB)에 첨가되는 내부 대조물질(Internal Control, IC) 용량

LB_{SAM} = 검체당 용해 완충액(LB) 용량

EL_{RXN} = 다운스트림 용량당 용출물 용량

LB_{TOT} = 프로토콜에 사용하는 용해 완충액(LB) + 운반체 RNA(CARRIER) 총 용량

EL_{SAM} = 검체당 용출물 용량

예를 들어, 이전에 확립된 분석 시스템을 사용하여 사용자 1 은 8.4ml 용해 완충액(LB) 및 140µl 운반체 RNA(CARRIER)에 39µl 내부 대조물질 용액(ICLB)을 첨가합니다. 분석 시스템에 대한 수동 표준 절차를 사용하여 검체당 625µl 용해 완충액(LB)을 첨가하고(LB_{SAM}), 75µl 용출 완충액(EL_{SAM})을 사용합니다. 사용자 1 은 다운스트림 반응당 50µl 용출물을 사용합니다(EL_{RXN}). 각 다운스트림 반응 내 내부 대조물질 용액 용량(IC_{RXN}):

$$IC_{RXN} = \frac{39\mu l \times 625\mu l \times 50\mu l}{(8540\mu l + 39\mu l) \times 75\mu l} = 1.89\mu l$$

해당 분석 시스템에 대한 최종 다운스트림 반응은 반응당 1.89µl 의 내부 대조물질 용액을 포함합니다.

시작하기 전에 첨가할 내부 대조물질 용량 결정

다운스트림 분석에 존재하기를 원하는 내부 대조물질(Internal Control, IC)의 용량(IC_{RXN})을 아는 경우, 정제를 시작하기 전에 용출 완충액(AVE) 및 운반체 RNA(CARRIER)로 희석할 내부 대조물질(Internal Control, IC) 용량(IC_{AVE})을 결정해야 합니다. 이 값을 결정하려면 다음 공식을 사용하십시오.

$$IC_{AVE} = \frac{IC_{RXN} \times IC_{TOT} \times EL_{SAM}}{IC_{SAM} \times EL_{RXN}}$$

여기에서:

IC_{AVE} = 용출 완충액-운반체 RNA(AVE-CARRIER)에 희석한 내부 대조물질(Internal Control, IC) 용량

IC_{RXN} = 다운스트림 반응당 내부 대조물질(Internal Control, IC) 용량

IC_{TOT} = 실행당 용출 완충액-운반체 RNA(AVE-CARRIER)에 희석한 내부 대조물질(Internal Control, IC)의 총 용량

IC_{SAM} = 검체당(50 μ l) 첨가한 희석한 내부 대조물질(Internal Control, IC) 용량

EL_{SAM} = 검체당 용출물 용량

EL_{RXN} = 다운스트림 반응당 용출물 용량

예를 들어, 사용자 2 는 반응당 1.0 μ l 내부 대조물질 용액(IC_{RXN}) 및 반응당 20 μ l 용출물(EL_{RXN})을 사용하도록 최적화된 분석으로 작업합니다. 사용자 2 는 EZ1 DSP Virus 프로토콜에 따라 진행하며 60 μ l 용출량(EL_{SAM})을 선택했습니다. 각 처리된 검체의 경우, 희석된 내부 대조물질(Internal Control, IC)의 용량 60 μ l 는 EZ1 작업대 위치 3 또는 EZ2 작업대 B 열의 1.5ml 튜브(ET)에 수동으로 피펫팅해야 하지만, EZ1 DSP Virus 프로토콜의 검체 준비 과정 동안 EZ1/EZ2 기기는 웰 3/B 열의 희석된 내부 대조물질 50 μ l(IC_{SAM})만 결합 반응에 옮길 것입니다. 한 개의 실행에서 6 개의 검체가 처리되는 경우, 조제할 희석된 내부 대조물질의 총 용량(IC_{TOT})은 다음과 같습니다.

IC_{TOT} = 실행당 검체 수 x 60 μ l

$$= 6 \times 60\mu\text{l} = 360\mu\text{l}$$

사용자 2 가 6 개 검체에 대해 필요한 내부 대조물질 용액 용량(IC_{AVE})은 다음과 같습니다.

$$IC_{AVE} = \frac{1\mu\text{l} \times 360\mu\text{l} \times 60\mu\text{l}}{(50\mu\text{l} \times 20\mu\text{l})} = 21.6\mu\text{l}$$

각 검체에 대해 1 μ g/ μ l 농도의 3.6 μ l 운반체 RNA(CARRIER) 저장 용액을 IC 희석에 첨가해야 합니다. 6 개 검체의 총 용량을 다음과 같이 계산해야 합니다.

운반체 RNA 저장 용액 총 용량 = 6 x 3.6 μ l 운반체 RNA 저장 용액 = 21.6 μ l

360 μ l 희석된 내부 대조물질(Internal Control, IC)의 최종 총 용량을 위해 사용자는 용출 완충액(AVE)를 첨가해야 합니다.

$$\begin{aligned} \text{용출 완충액(AVE) 용량} &= IC_{TOT} - IC_{AVE} - \text{운반체 RNA(CARRIER) 용량} \\ &= 360\mu\text{l} - 21.6\mu\text{l} - 21.6\mu\text{l} = 316.8\mu\text{l} \end{aligned}$$

사용자 2 는 21.6 μ l 내부 대조물질 용액을 316.8 μ l 용출 완충액(AVE) 및 21.6 μ l 운반체 RNA(CARRIER) 저장 용액에 첨가하여 희석된 내부 대조물질(Internal Control, IC) 360 μ l 를 얻어야 합니다. 이 희석된 내부 대조물질(Internal Control, IC) 중 60 μ l 는 EZ1 DSP Virus 프로토콜을 시작하기 전에 EZ1 작업대 위치 3 또는 EZ2 작업대 B 열의 1.5ml 튜브(ET)로 수동으로 옮겨야 합니다.

부록 C: EZ1 DSP Virus 시스템에 사용하는 검체 시트

이 검체 시트 템플릿은 EZ1 DSP Virus 절차를 사용할 때 기록 관리에 유용할 수 있습니다. 이 시트는 복사하거나 인쇄할 수 있으며 검체 설명 및 실행에 대한 세부 정보로 라벨링할 수 있습니다.

EZ1 DSP Virus 시스템

날짜/시간: _____ 키트 로트 번호: _____
 작동자: _____ 실행 ID: _____
 EZ1 일련 번호: _____

작업대 상 위치	Sample ID(검체 ID)	검체 물질	RCV 및 빈 튜브 로드 여부	ST 로드 여부	ET 로드 여부	DFT 가 있는 DTH 로드 여부	CARRIER 및 IC 가 있는 ET 로드 여부
1(좌측)							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14(우측)							

날짜/시간: _____ 키트 로트 번호: _____

작동자: _____ 실행 ID: _____

EZ2 일련 번호: _____

작업대상 위치	검체 ID	검체 물질	RCV 및 빈 튜브 로드 여부	ST 로드 여부	ET 로드 여부	DFT 가 있는 DTH 로드 여부	CARRIER 및 IC 가 있는 ET 로드 여부
1(좌측)							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24(우측)							

주문 정보

제품	목차	카탈로그 번호
EZ1 DSP Virus Kit(48)	바이러스 핵산 및/또는 박테리아 DNA 48 개 준비용: 사전 충전된 시약 카트리지, 일회용 팁 홀더, 일회용 필터 팁, 검체 튜브, 용출 튜브, 완충액, 운반체 RNA	62724
EZ1 Advanced XL DSP Virus Card	EZ1 DSP Virus 프로토콜에 대해 사전 프로그래밍된 카드, EZ1 Advanced XL 기기에 사용	9018703
EZ1 Advanced DSP Virus Card	EZ1 DSP Virus 프로토콜에 대해 사전 프로그래밍된 카드, EZ1 Advanced 기기에 사용	9018306
EZ1 DSP Virus Card	EZ1 DSP Virus 프로토콜에 대해 사전 프로그래밍된 카드, BioRobot EZ1 DSP 기기 *에 사용	9017707
EZ1 Advanced XL	EZ1 키트를 사용하여 최대 14 개 검체에서 핵산을 자동 정제하는 로봇 기기, 부품 및 인건비에 대한 1 년 보증*	9001492

* 권장되는 보증 PLUS 2(카탈로그 번호 9237720): 3 년 보증, 연간 1 회 예방 유지관리, 48 시간 우선 응대, 모든 인건비, 출장비 및 수리 부품 포함.

제품	목적	카탈로그 번호
EZ2 Connect MDx	밀봉된 사전 충전 EZ1 키트 카트리지를 사용하여 동시에 최대 24 개 검체에서 핵산을 자동 분리하는 실험대 기기, 부품 및 인건비에 대한 1 년 보증 포함 LIMS 및 QIASphere 사용 편의성을 위한 WiFi 연결성	9003230
Buffer ASL (4x 140ml)	4 x 140ml Buffer(완충액) ASL	19082

최신 라이선스 정보 및 제품별 면책 사항은 각 QIAGEN 키트 사용 지침을 참조하십시오. QIAGEN 키트 사용 지침은 www.qiagen.com 에서 확인하거나 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 요청할 수 있습니다.

문서 개정 이력

개정판	설명
R1, 2022년 6월	<ul style="list-style-type: none">• 새로운 EU 규정 2017/746(IVDR)에 따른 새로운 키트 버전 V5• 새로운 EZ2 Connect MDx 기기 사용 추가• 제공되는 물질 업데이트(활성 성분 추가)• 제한 사항 섹션 업데이트: 용도에서 검체 물질 전혈, 소변, 건조 도말, 가래 삭제• 경고 및 예방조치 업데이트• 시약 보관 및 취급 업데이트• 운반체 RNA 사용 중 안정성 업데이트• 폐기 섹션 추가• 문제 해결 가이드 업데이트
R2, 2022년 11월	키트 내용물 표에서 카탈로그 번호와 시약 이름을 수정하였습니다.

EZ1 DSP Virus Kit의 제한적 라이선스 계약

본 제품을 사용하는 것은 제품의 구매자 또는 사용자가 다음의 조건에 동의함을 나타냅니다.

1. 이 제품은 오직 제품과 함께 제공된 프로토콜과 이 안내서에 따라 사용해야 하며, 패널에 포함된 구성품만 함께 사용할 수 있습니다. QIAGEN은 제품과 함께 제공된 프로토콜, 이 안내서 및 www.qiagen.com에서 제공하는 추가 프로토콜에 기술된 바와 같은 경우를 제외하고, 그의 지적 재산권 하에서 이 패널에 포함된 구성품을 이 패널에 포함되지 않은 구성품과 함께 사용하거나 통합할 수 있는 라이선스를 허여하지 않습니다. QIAGEN 사용자를 위해 QIAGEN 사용자가 이 추가 프로토콜의 일부를 제공하였습니다. QIAGEN에서 이 프로토콜을 철저히 검사하거나 최적화하지 않았습니다. QIAGEN은 이를 보장하지 않으며 제 3자의 권한을 침해하지 않는다는 것도 보증하지 않습니다.
2. 명시적으로 설명한 라이선스 이외에 QIAGEN은 이 패널 및/또는 이 패널의 사용이 제 3자의 권리를 침해하지 않음을 보증하지 않습니다.
3. 이 패널 및 구성품은 일회 사용에 대해 라이선스가 허여되며 재사용, 재정비 또는 재판매할 수 없습니다.
4. QIAGEN은 명시적으로 설명한 경우 이외에 명시 또는 암시한 다른 라이선스는 명확히 부인합니다.
5. 패널의 구매자 및 사용자는 위에서 금지한 행위로 이어지거나 그러한 행위를 조장할 수 있는 조치를 취하거나 다른 사람이 그렇게 하도록 허용하지 않는다는 데 동의합니다. QIAGEN은 어떤 법정에서든 이 제한적 라이선스 계약의 금지를 주장할 수 있으며, 패널 및/또는 그것의 구성품과 관련된 이 제한적 라이선스 계약 또는 그것의 지적재산권을 주장하기 위한 어떤 소송에서 변호사 비용을 포함하여 그의 모든 조사 및 법정 비용을 회수할 수 있습니다.

라이선스 조항의 업데이트에 대해서는 www.qiagen.com을 참조합니다.

상표: QIAGEN®, Sample to Insight®, EZ1®, EZ2®, BioRobot®(QIAGEN 그룹). 이 문서에 사용된 등록된 이름, 상표 등은 별도로 표시되지 않은 경우에도 법적 보호를 받는 것으로 간주됩니다.

2022년 11월 HB-3026-002 1129846 © 2022 QIAGEN, 모든 권한 보유.

