

Handbok för EZ1[®] DSP DNA Blodkit

Σ 48

Version 3

IVD

Endast för in vitro-diagnostisk användning.



REF

62124

HB

1054989SV



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND

R5

MAT

1054989SV



QIAGEN provtagnings- och analysmetoder

QIAGEN är den ledande tillverkaren av innovativa provtagnings- och analysmetoder, som möjliggör isolering och detektion av innehållet i vilket som helst biologiskt prov. Våra avancerade, högkvalitativa produkter och tjänster säkerställer framgång från prov till resultat.

QIAGEN standardiserar:

- Rening av DNA, RNA och proteiner
- Nukleinsyra- och proteinanalyser
- mikroRNA-forskning och RNAi
- Automatisering av provtagnings- och analysmetoder

Vår mission är att göra det möjligt för dig att uppnå stor framgång och genombrott. För ytterligare information, se www.qiagen.com.

Innehåll

Satsinnehåll	4
Symboler	4
Förvaring	5
Avsedd användning	5
Begränsningar för produktanvändning	6
Teknisk support	6
Varningar och försiktighet	6
Kvalitetskontroll	7
Inledning	8
Princip och användning	8
Prestandaegenskaper för EZ1 DSP DNA-blodsystem	8
Utrustning och reagenser som tillhandahålls av användaren	25
Viktiga anmärkningar	27
Förvaring av blodprover	27
Utfällning i reagenskassetten (RCB)	27
Arbeta med EZ1-arbetsstationer	27
Protokoll: Rening av genomiskt DNA från helblod med EZ1 Advanced XL34	27
Protokoll: Rening av genomiskt DNA från helblod med EZ1 Advanced (med V2.0 Card)	37
Protokoll: Rening av genomiskt DNA från helblod med EZ1 Advanced (med V1.0 Card)	40
Protokoll: Rening av genomiskt DNA från helblod med BioRobot EZ1 DSP43	43
Felsökningsguide	45
Bilaga A: Skärmmeddelanden	47
Bilaga B: Förvaring, kvantifiering och bestämning av renhet på DNA	71
Bilaga C: Provblad för användning med EZ1 DSP DNA Blodsystem	73
Bilaga D: Exempel på en EZ1 Advanced rapportfil	74
Beställningsinformation	77

Satsinnehåll

EZ1 DSP DNA-blodsats			(48)
Katalognummer			62124
För antal prover			48
RCB	Reagenskasset, blod 350 μ l*	REAG CART BLOOD	48
DTH	Engångsfilterhållare	DISP TIP HOLD	50
DFT	Engångsfilterspetsar	DISP FILT TIP	50
ST	Provrör (2 ml)	SAMP TUBE	50
ET	Elueringsrör (1,5 ml)	ELU TUBE	50
	Q-Card [†]		1
	Handbok	H B	1

* Innehåller natriumazid som konserveringsmedel. Innehåller guanidinsalt. Får ej komma i kontakt med desinfektionsmedel som innehåller blekmedel. För ytterligare information, se sid. 8.

[†] Information som är kodad i streckkoden på Q-Card behövs för spårning av reagensdata med användning av EZ1 Advanced XL arbetsstation.

Symboler

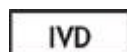


48

Innehåller reagenser för 48 provpreparat



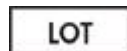
Används senast



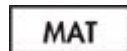
In vitro-diagnostisk medicinsk produkt



Katalognummer



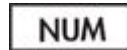
Lotnummer



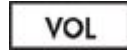
Materialnummer



Komponenter



Antal



Volym



Temperaturbegränsningar



Lagligt ansvarig tillverkare



Viktig anmärkning



Endast för användning med



Innehåller



Guanidinisotiocyanat



Guanidinhydroklorid



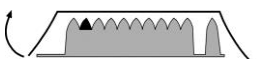
Etanol



GS1-artikelnummer (Global Trade Item Number)



Öppnas vid mottagandet; förvara reagenskassetterna (RCB) vid 2-8 °C



Denna sida ned när förpackningen öppnas

Förvaring

Förvara reagenskassetterna (RCB) svalt vid 2-8 °C. De magnetiska partiklarna i reagenskassetterna (RCB) förblir aktiva när de förvaras vid denna temperatur. Reagenskassetterna (RCB) får ej frysas ned. Reagenskassetterna (RCB) är stabila tills det utgångsdatum som är tryckt på etiketten och på kitets kartong, när de förvaras vid 2-8 °C. När reagenskassetterna (RCB) tas ut ur kylskåpet, kan de förvaras en gång vid 15-25 °C, men måste användas inom 4 veckor eller före det utgångsdatum som står tryckt på etiketten, Q-Card eller på kitets kartong, det som inträffar först.

Buffertar i reagenskassetten (RCB) (brunn 1) kan bilda en utfällning vid förvaring. Reagenskassetten (RCB) ska bringas i jämvikt till rumstemperatur (15–25 °C) före användning. Kontrollera detta före användning och lös upp utfällningarna igen enligt beskrivning i "Utfällning i reagenskassetten (RCB)", sidan 28.

Avsedd användning

EZ1 DSP Blodkit använder magnetisk mikrosfärteknik för automatisk isolering och rening av humant DNA från biologiska prov.

Produkten är avsedd för användning av professionella användare som laboranter och läkare som är utbildade inom molekylärbiologisk teknik.

EZ1 DSP DBA Blod-system är avsett för in vitro-diagnostisk användning.

Begränsningar för produktanvändning

Användaren är ansvarig för att validera systemets funktion avseende samtliga procedurer som används i vid användarens laboratorium, som inte omfattas av QIAGENs utvärderande funktionsstudier.

Systemprestandan har bestämts vid prestandautvärderingsstudier med humant helblod för isolering av genomiskt DNA.

För att minimera risken för negativ påverkan på de diagnostiska resultaten, måste lämpliga kontroller för applikationer i senare led användas. För ytterligare validering rekommenderas instruktionerna i International Conference on Harmonisation of Technical Requirements (ICH) i *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text and Methodology*.

Alla diagnostiska resultat som genereras måste tolkas tillsammans med andra kliniska fynd eller laboratoriefynd.

Teknisk support

Vi på QIAGEN är stolta över vår tekniska supports kvalitet och tillgänglighet. Våra tekniska serviceavdelningar är bemannade med erfarna vetenskapsmän med omfattande praktisk och teoretisk expertis inom molekylärbiologi och användningen av QIAGEN-produkter. Kontakta oss om du har frågor eller problem med EZ1 DSP DNA Blodkit eller QIAGEN-produkter i allmänhet.

QIAGEN-kunder är en viktig informationskälla beträffande avancerad eller specialiserad användning av våra produkter. Denna information är användbar såväl för andra vetenskapsmän som för forskarna på QIAGEN. Vi uppmanar dig därför att kontakta oss om du har några förslag om produktprestanda eller nya applikationer och metoder.

För tekniskt stöd och mer information, gå in på vårt tekniska supportcenter på www.qiagen.com/Support eller ring någon av QIAGEN tekniska serviceavdelningar eller lokala distributörer (se baksidan eller gå in på www.qiagen.com).

Varningar och försiktighet

Använd alltid laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Se lämpliga säkerhetsdatablad för ytterligare information. Dessa finns tillgängliga online i praktiskt och kompakt PDF-format på www.qiagen.com/safety, där du kan hitta, se och skriva ut SDS för varje QIAGEN-kit och kitkomponent.



WARNING: Tillsätt ALDRIG blekmedel eller sura lösningar direkt till provavfallet.

Buffertar i reagenskassetterna (RCB) innehåller guanidinhydroklorid/guanidinisotiocyanat, som kan bilda starkt reaktiva föreningar när de kombineras med blekmedel.

Om vätska innehållande dessa buffertar spill ut, rengör med lämpliga laboratorierengöringsmedel och vatten. Om vätska innehållande potentiellt smittbärande ämnen spills på EZ1 arbetsstationer, desinficera arbetsstationen med reagenser som beskrivs i användarhandboken som medföljer din EZ1-arbetsstation.

Spruckna eller läckande reagenskassetter (RCB) måste hanteras och kasseras i enlighet med lokala säkerhetsföreskrifter. Använd inte skadade reagenskassetter (RCB) eller andra kitkomponenter, eftersom de kan försämra kitprestandan.

QIAGEN har inte testat vätskeavfallet som genereras av EZ1 DSP DNA-blodproceduren med avseende på resterande smittbärande material. Kontamination av vätskeavfallet med resterande infektiösa material är mycket osannolikt, men kan inte helt uteslutas. Därför måste kvarvarande vätskeavfall anses smittbärande och hanteras och kasseras i enlighet med lokala säkerhetsföreskrifter.

Följande information om risker och försiktighetsåtgärder gäller komponenter i EZ1 DSP DNA-blodsatsen:

Reagent Cartridge Blood



Innehåller: ethanol; guanidine thiocyanate; guanidine hydrochloride. Fara! Farligt vid förtäring. Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra. Mycket brandfarlig vätska och ånga. Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten/ duscha. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare. Får inte utsättas för värme/gnistor/öppen låga/heta ytor. - Rökning förbjuden. Förvaras på väl ventilerad plats. Förvaras svalt. Använd skyddshandskar/ skyddskläder/ ögonskydd/ ansiktsskydd.

Kvalitetskontroll

För att säkerställa en enhetlig produktkvalitet testas varje lotnummer av EZ1 DSP DNA-blodsats med fastställda specifikationer enligt QIAGEN:s ISO-certifierade kvalitetshanteringssystem.

Inledning

EZ1 DSP DNA-blodsats är avsedd för rening av genomiskt DNA från helblodsprover. Magnetisk partikelteknologi ger högkvalitativt DNA som är lämpligt för direkt användning i påföljande applikationer, såsom amplifiering eller andra enzymatiska reaktioner. EZ1-arbetsstationen utför alla steg i den provförberedande proceduren för upp till 6 prover (med hjälp av EZ1 Advanced eller BioRobot® EZ1 DSP) eller för upp till 14 prover (med hjälp av EZ1 Advanced XL) i en enda körning.

Med BioRobot EZ1 DSP eller EZ1 Advanced med protokoll Card V1.0 är ingående provvolym 350 μ l och DNA-eluering sker i 200 μ l elueringsbuffert. Med EZ1 Advanced XL eller EZ1 Advanced med protokoll Card V2.0 kan ingående provvolym väljas bland 200 μ l eller 350 μ l och volymen för DNA-eluering kan väljas bland 50 μ l, 100 μ l eller 200 μ l.

Princip och användning

Magnetisk partikelteknologi kombinerar hastigheten och effektiviteten hos kiselsyrabaserad DNA-rening med den praktiska hanteringen av magnetiska partiklar (se flödesdiagram, sidan 11). DNA isoleras från lysat i ett moment genom bindning till partiklarnas kiselsyryta i närvaro av ett kaotropiskt salt. Partiklarna separeras från lysaten med användning av en magnet. DNA tvättas och elueras sedan effektivt i en elueringsbuffert.

Prestandaegenskaper för EZ1 DSP DNA-blodsystem

Systemets härdighet

Olika primära rör och antikoagulanter kan användas för att samla upp blodprover för EZ1 DSP DNA-blodproceduren. På sid. 10 (Tabell 1) finns en översikt över de provinsamlingsrör som har använts för utvärdering av systemet. Dessa rör utvaldes för att täcka flera olika antikoagulanter och tillverkare blodinsamlingsrör. Rör från andra tillverkare kan också användas.

Det genomsnittliga relativa utbytet av DNA från blodprover, med användning av andra primära rör, visas i Fig. 1, sid. 11.

EZ1 DSP DNA-blodprocedur

Helblod



Lysera

Magnetiska partiklar
som tillsatts till prover



DNA binder
till magnetiska partiklar



Magnet

Magnetisk
separation



Tvätta



Magnet

Magnetisk
separation



Eluera

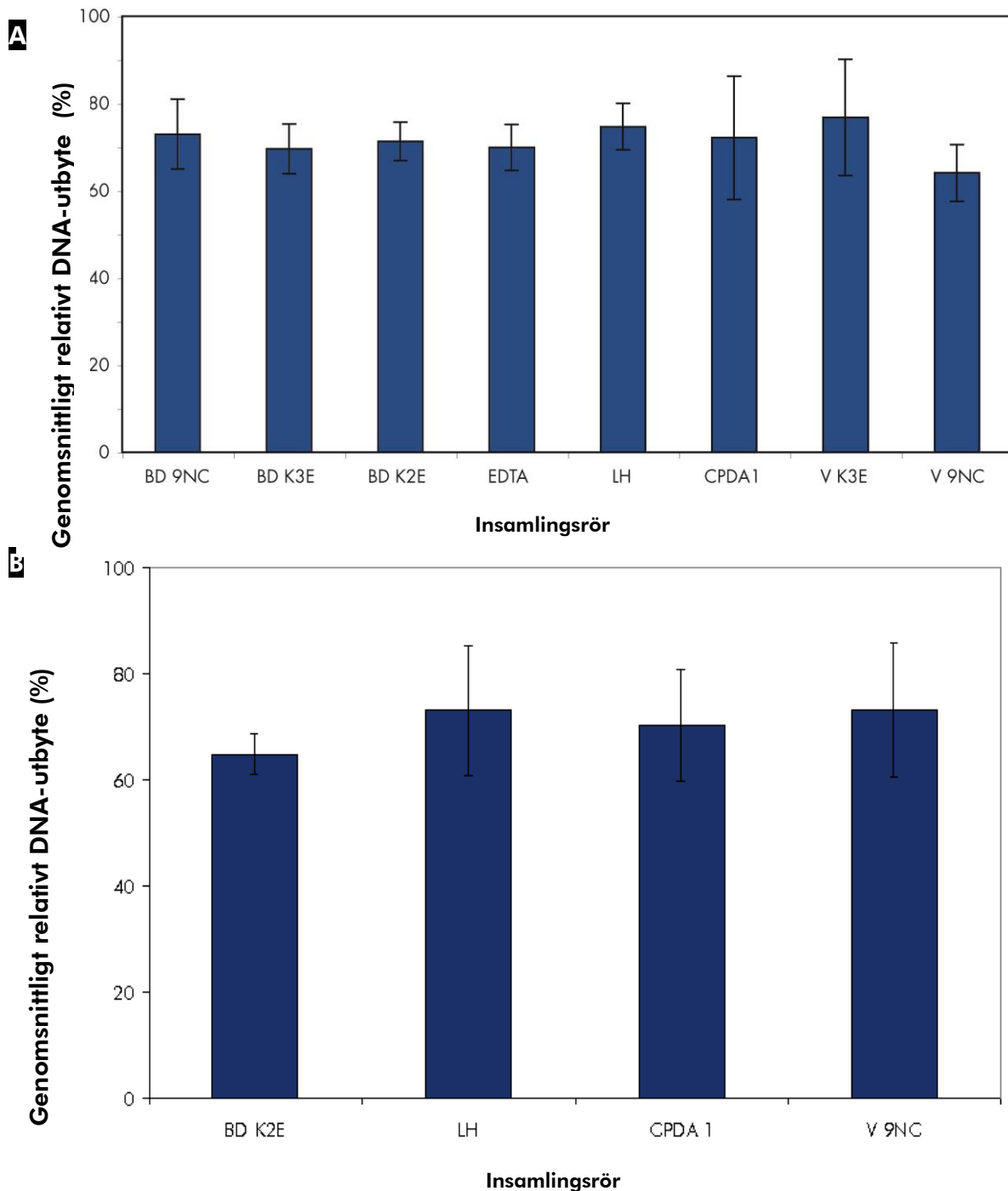


Rent, högkvalitativt DNA

Tabell 1. Blodinsamlingsrör som testats med EZ1 DSP DNA-blodsystem

Rör	Förkortning	Producent	Kat.nr.*	Nominell uppdragningsvolym (ml)
BD Vacutainer® 9NC	BD 9NC	Becton Dickinson	366007	9
BD Vacutainer K3E	BD K3E	Becton Dickinson	368457	10
BD Vacutainer K2E	BD K2E	Becton Dickinson	367864	6
Monovette® EDTA	EDTA	Sarstedt	21.066.00 1	9
Monovette LH	LH	Sarstedt	21.065.00 1	9
Monovette CDPA1	CPDA1	Sarstedt	11.610.00 1	8,5
Vacurette® K3E	K3E	Greiner Bio-One	455036	9
Vacurette 9NC	V 9NC	Greiner Bio-One	454382	9

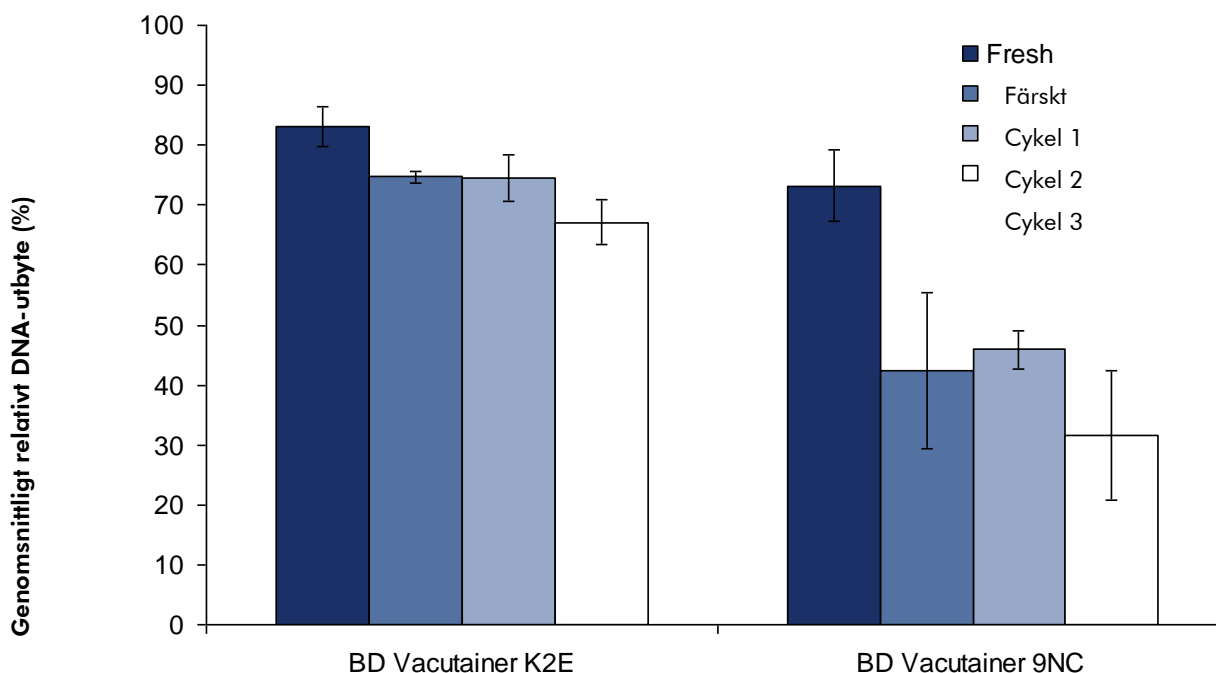
* Katalognummer kan ändras. Kontrollera med tillverkaren eller leverantören.



Figur 1. Systemets härdighet med användning av olika insamlingsrör och antikoagulanter. Helblod insamlades från friska givare i olika typer av rör med 3 replikat per givare och rör. Rören som används anges i Tabell 1 (sid. 12). **A** Blod insamlades från 6 givare i 8 olika typer av rör. Genomiskt DNA renades från 250 μ l prover med eluering i 200 μ l. **B** Blod insamlades från 4 givare i 4 olika typer av rör. Genomiskt DNA renades från 200 μ l prover med hjälp av EZ1 DSP DNA Blodsystem på BioRobot EZ1 Advanced XL, med eluering i 200 μ l. Teoretiska DNA-utbyten från varje givare och rör fastställdes genom räkning av vita blodkroppar. Staplarna visar det genomsnittliga relativa DNA-utbytet (jämfört med det teoretiska utbytet) med standardavvikelse.

Nedfrysning - upptining av prover

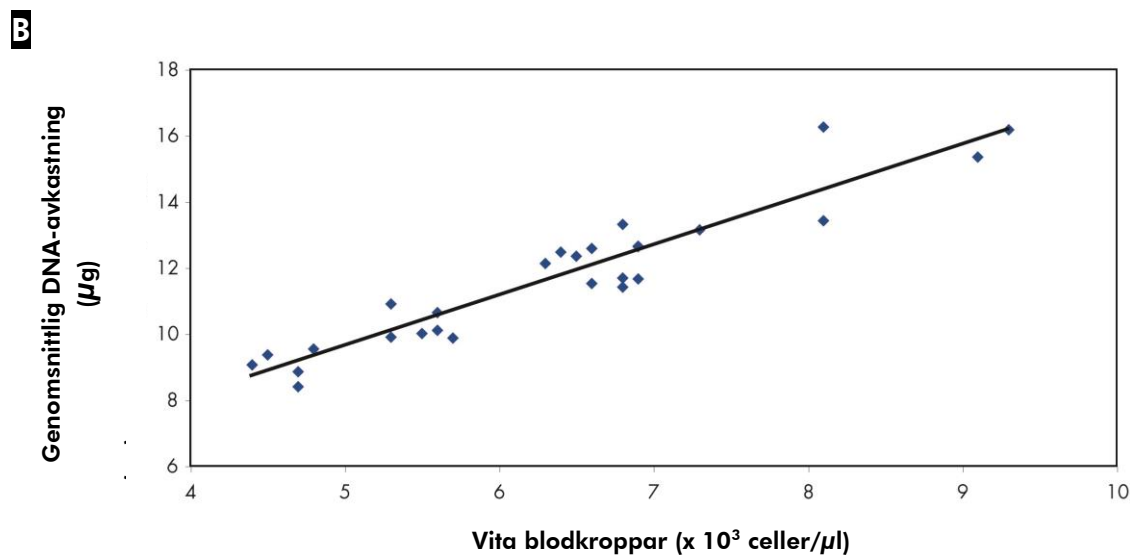
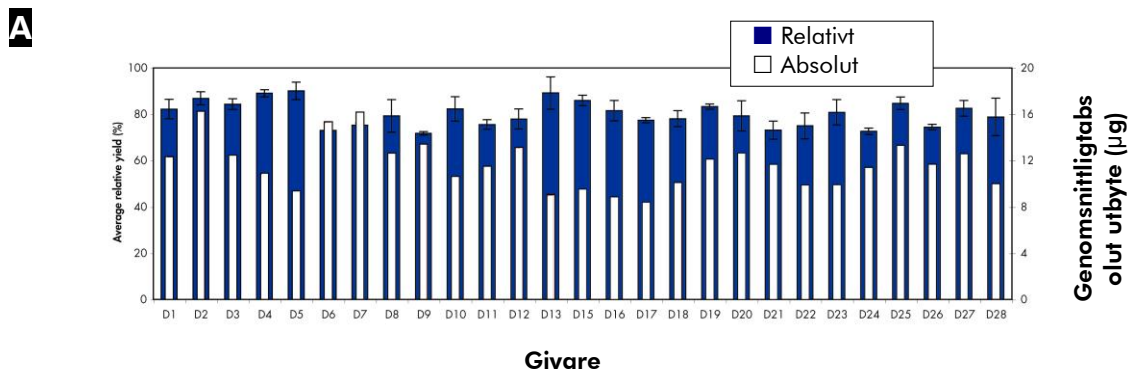
Färska eller frysta blodprover med humant helblod kan användas (se "Förvaring av blodprov", sidan 27). Effekterna av nedfrysning och upptining av blodprover på DNA-rening med användning av EZ1 DSP DNA-blodsystemet har fastställts (Figur 2).



Figur 2. Påverkan av nedfrysnings-/upptiningscykler på DNA-utbyten. Helblod insamlades från 3 friska givare i de angivna rören med 6 replikat vardera. Rören som används anges i Tabell 1. Genomiskt DNA renades från 350 μ l av varje prov genom EZ1 DSP DNA-blodsystemet, och medelvärden av relativt DNA-utbyte (**Färskt**) beräknades för varje givare och rör. Rören med blodet frystes och tinades 3 gånger. Genomiskt DNA renades efter varje nedfrysnings-/upptiningscykel (**Cykel 1 - Cykel 3**) genom EZ1 DSP DNA-blodsystemet, och det relativa DNA-utbytet fastställdes. För nedfrysnings/upptining rekommenderas rör med EDTA antikoagulant.

Utbyte av renat DNA

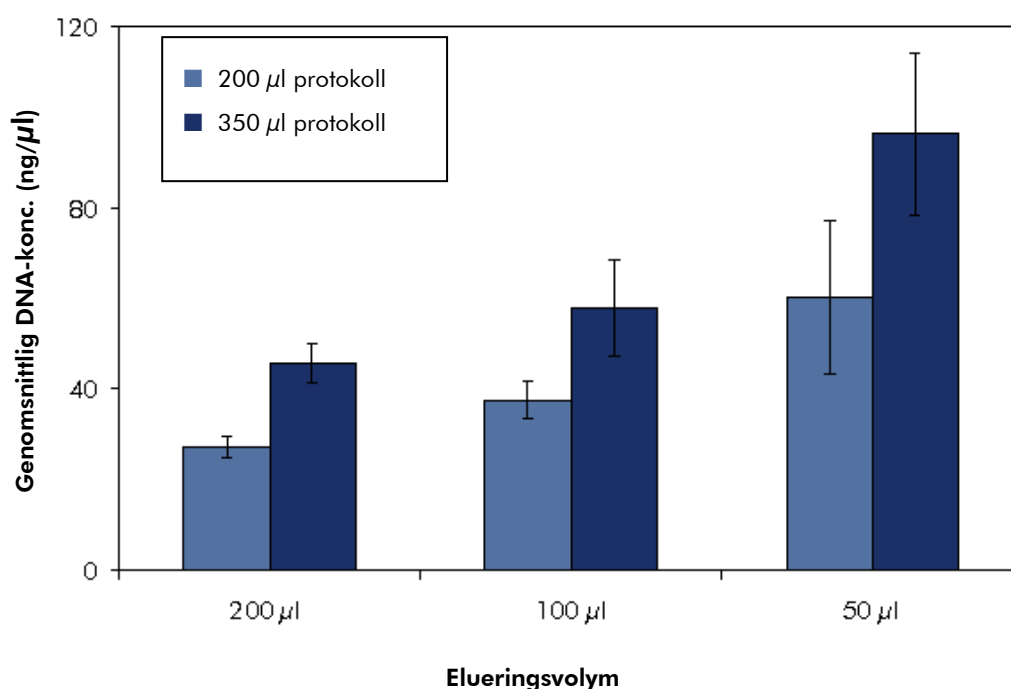
Genomiskt DNA renades från 350 μ l blodprov från friska givare. Mängden DNA som renas genom EZ1 DSP DNA blodprocedur beror på innehållet av vita blodkroppar i varje blodprov, och utbytet kan variera mellan givarna (Figur 3).



Figur 3. Genomsnittliga absoluta och relativa DNA-utbyten från olika givare. Helblod insamlades från 27 givare tredubbelt. Genomiskt DNA renades från 350 µl av varje prov genom EZ1 DSP DNA-blodsystem. **A** Ett teoretiskt DNA-utbyte fastställdes genom beräkningar av vita blodkroppar. Genomsnittliga absoluta (**Absolut**) och relativa (**Relativt**) (jämfört med beräknat teoretiskt utbyte) DNA-utbyten visas för varje givare. **B** Genomsnittliga absoluta utbyten visas för varje givare i förhållande till mängden vita blodkroppar.

Koncentration av renat DNA med hjälp av olika elueringsvolymmer

Genomiskt DNA renades från 250 µl och 350 µl blodprov från friska givare genom EZ1 DSP DNA Blodprocedur på EZ1 Advanced XL med tre olika elueringsvolymmer (Figur 4).



Figur 4. Genomsnittlig DNA-koncentration erhållen med olika elueringsvolymmer. Helblod insamlades från 3 givare. Genomiskt DNA renades från 200 μl och 350 μl av varje prov och eluerades i 200 μl, 100 μl och 50 μl, vardera i 3 exemplar, genom EZ1 DSP DNA Blodsystem på EZ1 Advanced XL. Genomsnittlig DNA-koncentration visas för varje protokoll och elueringsvolym.

ⓘ På grund av den låga volymen med elueringsbuffert och uppvärmning av elueringsbufferten under processen, kan eluering med 50 μl leda till en slutlig elueringsvolym som är lägre än 50 μl.

Eluering av rent, genomiskt DNA

Genomiskt DNA elueras i en elueringsbuffert med låg salthalt. Det eluerade DNA:t är redo för användning i in vitro-diagnostiska analyser i senare led, som exempelvis CE-IVD-märkta *artus*[®] PCR Kits.

Helblod insamlades från 30 slumpmässigt utvalda blodgivare, och DNA renades från 350 μl prover och eluerades i 200 μl med EZ1 DSP DNA-blodsystemet. *artus* MTHFR LC PCR Kit och *artus* TPMT LC PCR Kit användes för att fastställa kliniskt relevanta genetiska varianter i metylentetrahydrofolatreduktas- (MTHFR) och tiopurin S-metyltransferas- (TPMT) gener. Proverna analyserades på ett LightCycler[®]-instrument. Data som anges i tabell 2 och 3 (med början på sidan 15 och 18), med smältkurvanalys och procentuell fördelning för varianter av MTHFR-genen, illustreras i figur 5 och 6 (sidan 17 och 18).

Tabell 2. Polymorfismer vid nukleotid 667 och nukleotid 1298 hos MTHFR-genen, detekterat med hjälp av *artus* MTHFR LC PCR Kit

Provnummer	Nukleotid 677	Nukleotid 1298	Genotyp
1	heterozygot var	homozygot vt	vt677/var677 vt1298/vt1298
2	homozygot vt	homozygot vt	vt677/vt677 vt1298/vt1298
3	homozygot vt	heterozygot var	vt677/vt677 vt1298/var1298
4	homozygot var	homozygot vt	var677/var677 vt1298/vt1298
5	homozygot vt	heterozygot var	vt677/vt677 vt1298/var1298
6	homozygot vt	heterozygot var	vt677/vt677 vt1298/var1298
7	heterozygot var	homozygot vt	vt677/var677 vt1298/vt1298
8	homozygot vt	homozygot vt	vt677/vt677 vt1298/vt1298
9	homozygot vt	heterozygot var	vt677/vt677 vt1298/var1298
10	heterozygot var	heterozygot var	vt677/var677 vt1298/var1298
11	homozygot vt	heterozygot var	vt677/vt677 vt1298/var1298
12	homozygot vt	homozygot vt	vt677/vt677 vt1298/vt1298
13	homozygot vt	homozygot vt	vt677/vt677 vt1298/vt1298

var: Variant allele vid angiven position på MTHFR-genen.

vt: Omodifierad allele vid angiven position på MTHFR-genen. Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 2. forts.

Provnummer	Nukleotid 677	Nukleotid 1298	Genotyp
14	heterozygot var	homozygot vt	vt677/var677 vt1298/vt1298
15	heterozygot var	homozygot vt	vt677/var677 vt1298/vt1298
16	homozygot vt	heterozygot var	vt677/vt677 vt1298/var1298
17	homozygot var	homozygot vt	var677/var677 vt1298/vt1298
18	heterozygot var	homozygot vt	vt677/var677 vt1298/vt1298
19	homozygot vt	heterozygot var	vt677/vt677 vt1298/var1298
20	homozygot vt	heterozygot var	vt677/vt677 vt1298/var1298
21	homozygot vt	homozygot var	vt677/vt677 var1298/var1298
22	heterozygot var	homozygot vt	vt677/var677 vt1298/vt1298
23	heterozygot var	heterozygot var	vt677/var677 vt1298/var1298
24	heterozygot var	homozygot vt	vt677/var677 vt1298/vt1298
25	homozygot vt	heterozygot var	vt677/vt677 vt1298/var1298
26	homozygot vt	homozygot var	vt677/vt677 var1298/var1298
27	homozygot vt	heterozygot var	vt677/vt677 vt1298/var1298

var: Variantt allel vid angiven position på MTHFR-genen.

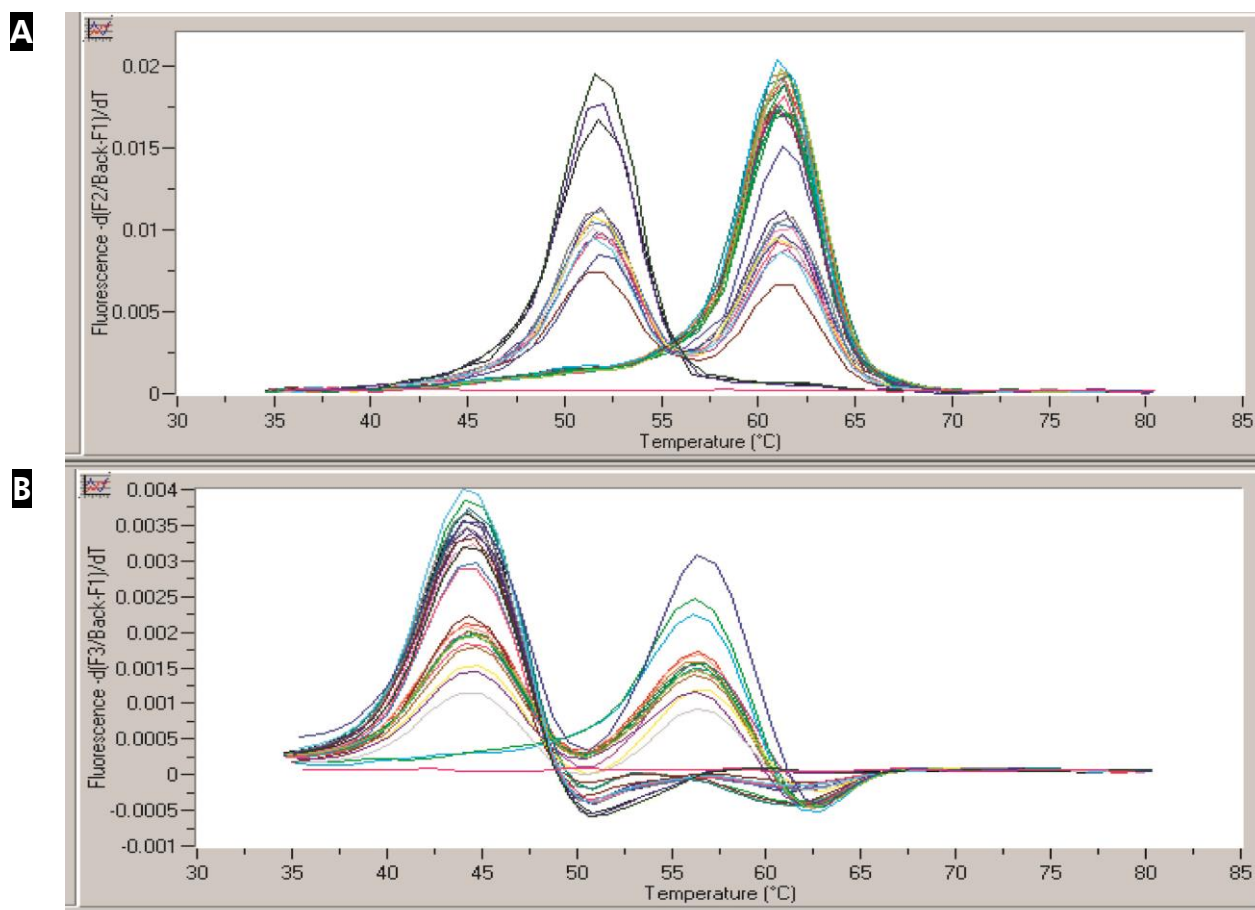
vt: Omodifierad allel vid angiven position på MTHFR-genen. Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 2. forts.

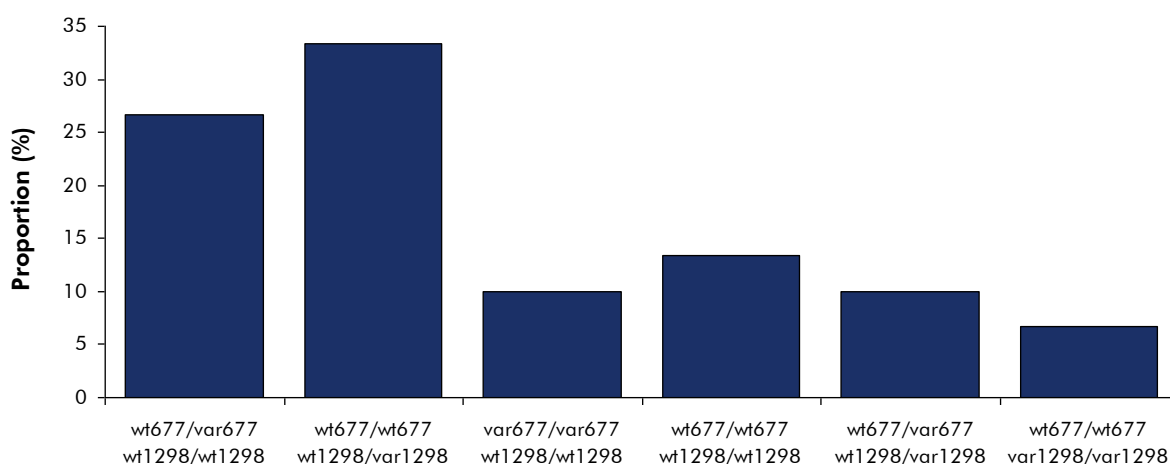
Provnummer	Nukleotid 677	Nukleotid 1298	Genotyp
28	heterozygot var	heterozygot var	vt677/var677 vt1298/var1298
29	heterozygot var	homozygot vt	vt677/var677 vt1298/vt1298
30	homozygot var	homozygot vt	var677/var677 vt1298/vt1298

var: Variantt allel vid angiven position på MTHFR-genen.

vt: Omodifierad allel vid angiven position på MTHFR-genen.



Figur 5. Smältkurvanalys av amplifieringsprodukter vid nukleotider 677 och 1298 hos MTHFR-genen. DNA renades från helblod från 30 givare med användning av EZ1 DSP DNA-blodsystemet. Eluaten analyserades med hjälp av det CE-IvD-märkta *artus* MTHFR LC PCR Kitet med smältkurvanalys på LightCycler-instrumentet. **A** Analys vid nukleotid 677. **B** Analys vid nukleotid 1298.



Figur 6. Fördelning av genotyper som detekterats för MTHFR-genen. Data från Tabell 2 och Figur 5 sammanfattas grafiskt enligt proportion för varje genotyp som detekterats.

Tabell 3. Polymorfismer för TPMT genen som detekterats med hjälp av *artus* TPMT LC PCR Kitet

Provnummer	TPMT-genotyp
1	TPMT*1/*1
2	TPMT*1/*1
3	TPMT*1/*1
4	TPMT*1/*1
5	TPMT*1/*1
6	TPMT*1/*3A eller TPMT*3C/*3B
7	TPMT*1/*1
8	TPMT*1/*3A eller TPMT*3C/*3B
9	TPMT*1/*1
10	TPMT*1/*3A eller TPMT*3C/*3B
11	TPMT*1/*1
12	TPMT*1/*1
13	TPMT*1/*1
14	TPMT*1/*1

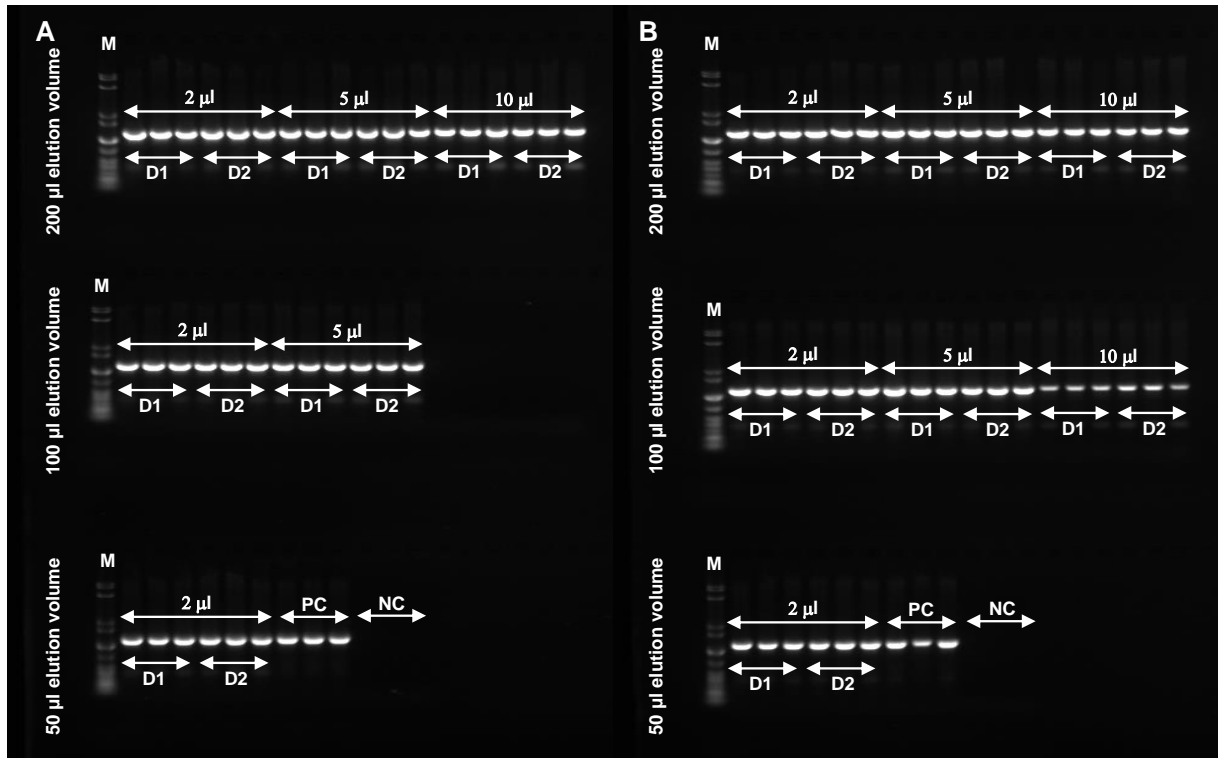
Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 3. forts.

Provnummer	TPMT-genotyp
15	TPMT*1/*1
16	TPMT*1/*1
17	TPMT*1/*3A eller TPMT*3C/*3B
18	TPMT*1/*1
19	TPMT*1/*1
20	TPMT*1/*1
21	TPMT*1/*1
22	TPMT*1/*1
23	TPMT*1/*1
24	TPMT*1/*1
25	TPMT*1/*1
26	TPMT*1/*1
27	TPMT*1/*1
28	TPMT*1/*1
29	TPMT*1/*1
30	TPMT*1/*1

Inhibitionstest

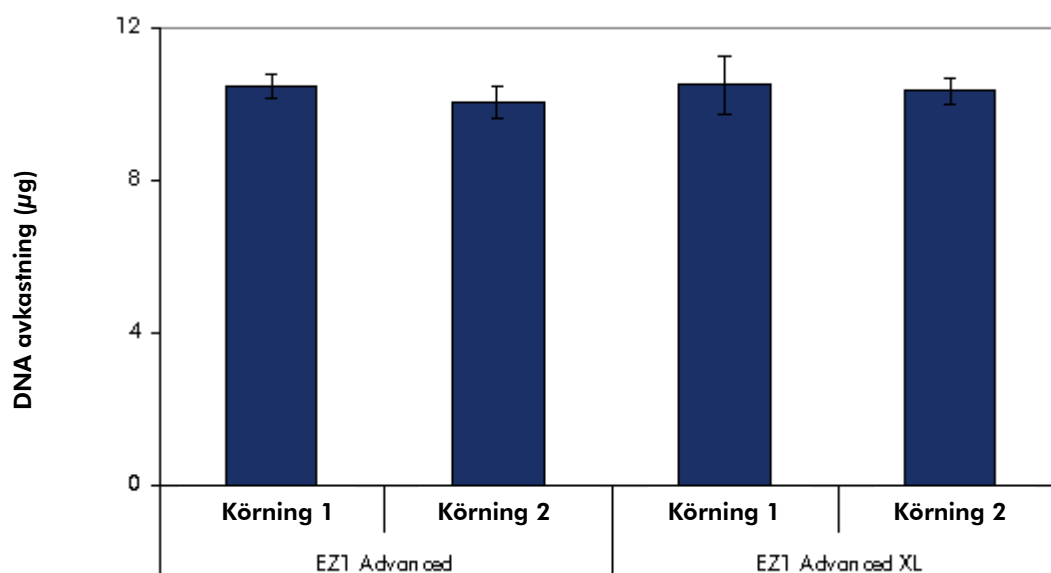
Effekterna på PCR-prestanda av ökande mängder eluat som används i PCR, har fastställts (Figur 7).



Figur 7. Effekterna på PCR-prestanda av eluatvolym som används i PCR. Blod från två friska givare (D1, D2) samlades in i BD K2E-rör. Genomiskt DNA renades från 350 µl (A) och 200 µl (B) alikvoter i tre körningar med EZ1 DSP DNA-blodsystemet. DNA eluerades i 200 µl, 100 µl eller 50 µl (elueringsvolym). Den angivna mängden eluat användes i en 50 µl PCR med primers för en 1100 bp enkelkopia av humant genfragment. **PC**: Positive kontroll. **NC**: Negativ kontroll. **M**: Låg DNA-stege. (Notera att stora mängder med höga koncentrationer av DNA kan orsaka överbelastning av PCR, som exemplifieras t.ex. av de svagare banden när 10 µl av en 100 µl eluering används i PCR.)

Precisionsanalys

DNA-utbyten från 350 μ l humant helblod jämfördes för olika körningar på EZ1 DSP DNA-blodsystemet på en EZ1 Advanced och EZ1 Advanced XL. Precisionsdata mellan körningar visas som standardavvikelser av DNA-utbytena (Figur 8).



Figur 8. Precision inom körningar och mellan körningar, med användning av EZ1 DSP DNA-blodsystemet. Blod från en frisk givare samlades in i BD K2E-rör och sammanslogs före användning. Genomiskt DNA renades från tolv 350 μ l alikvoter i 2 körningar (Körning 1, Körning 2) med 6 replikat vardera på EZ1 Advanced, och från tjugoåtta 350 μ l alikvoter i 2 körningar (Körning 1, Körning 2) med 14 replikat vardera på EZ1 Advanced XL med EZ1 DSP DNA-blodsystemet. Genomsnittligt totalt DNA-utbyte och standardavvikelse visas för varje körning. Värderna för precision inom körningar var 2,90% (Körning 1, EZ1 Advanced), 3,80% (Körning 2, EZ1 Advanced), 7,17% (Körning 1, EZ1 Advanced XL) och 3,45% (Körning 2 EZ1 Advanced XL) och total precision var 5,17%.

Eluatstabilitet

Stabilitet för genomiskt DNA i EZ1-eluat har påvisats under 24 månader när det förvarats vid 5°C och under 36 månader när det förvarats vid -20°C eller -80°C.

Uteslutande av provöverföring

Tolv körningar med EZ1 Advanced (med V2.0 protokoll-Card; 350 μ l inmatning, 200 μ l eluering) och nio körningar med EZ1 Advanced XL (200 μ l inmatning, 200 μ l eluering) utfördes med EZ1 DSP DNA-blodsystemet för att utvärdera riskerna för korskontaminering under och mellan EZ1 DSP DNA-blodprocedurer. För att detektera prov-till-prov-rester, utfördes körningarna med manligt (positivt) och kvinnligt (negativt) blodprov i alternerande positioner, enligt Tabell 4 och 5. Var tredje körning utfördes med endast kvinnliga blodprov. Alla eluat testades för amplifiering av ett 78 bp fragment av Y-kromosomspecifika genen SRY i enkel uppsättning med hjälp av QIAGEN QuantiTect® Probe PCR Kitet.

Tabell 4. Uppställning av korskontamineringstest med EZ1 Advanced och C_T-värden för positiva (manliga) prov

Körning	Position					
	1	2	3	4	5	6
1	23,37	K	23,14	K	23,22	K
2	K	23,41	K	23,15	K	23,44
3	K	K	K	K	K	K
4	23,53	K	23,27	K	23,39	K
5	K	23,28	K	23,39	K	23,46
6	K	K	K	K	K	K
7	23,14	K	23,50	K	23,17	K
8	K	23,21	K	23,46	K	23,44
9	K	K	K	K	K	K
10	23,29	K	23,45	K	23,47	K
11	K	23,53	K	23,39	K	23,42
12	K	K	K	K	K	K

K: Kvinnliga (negativa) prover.

Siffror: C_T-värden för manliga (positiva) prover.

Tabell 5. Uppställning av korskontamineringstest med EZ1 Advanced XL och C_T-värden för positiva (manliga) prov

Körning	Position						
	1	2	3	4	5	6	7
1	24,27	K	24,13	K	24,12	K	24,22
2	K	23,92	K	24,12	K	23,85	K
3	K	K	K	K	K	K	K
4	24,02	K	23,98	K	24,31	K	24,35
5	K	24,74	K	24,56	K	24,62	K
6	K	K	K	K	K	K	K
7	24,48	K	24,64	K	24,49	K	24,52
8	K	24,55	K	24,40	K	24,52	K
9	K	24,80	K	24,70	K	24,68	K
Position							
	8	9	10	11	12	13	14
1	K	23,99	K	24,16	K	24,18	K
2	24,06	K	24,11	K	23,94	K	24,02
3	K	K	K	K	K	K	K
4	K	24,22	K	24,30	K	24,10	K
5	24,64	K	24,28	K	24,59	K	24,53
6	K	K	K	K	K	K	K
7	K	24,62	K	24,41	K	24,66	K
8	24,37	K	24,46	K	24,58	K	24,46
9	24,74	K	24,52	K	24,80	K	24,67

K: Kvinnliga (negativa) prover.

Siffror: C_T-värden för manliga (positiva) prover.

Samtliga manliga blodprov testades positivt i PCR (C_T -värden är listade i Tabell 4 och Tabell 5) och samtliga kvinnliga blodprov testades negativt. Dessa experiment påvisar att EZ1 DSP DNA-blodproceduren inte ger några provrester under dessa förhållanden.

Utrustning och reagenser som tillhandahålls av användaren

Använd alltid laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Se lämpliga säkerhetsdatablad för ytterligare information, vilka kan erhållas av respektive tillverkare.

Alla protokoll

- Pipetter* och sterila, RNAs-fria pipettspetsar
- Mjuk pappersduk
- Vatten
- 70 % etanol
- Valfritt: skakare-inkubator* (om reagenskassetterna [RCB] innehåller utfällningar på botten av brunnarna)
- Valfritt: mikrocentrifug* (om de magnetiska partiklarna måste avlägsnas från eluaten)

För BioRobot EZ1-användare

- BioRobot EZ1 DSP arbetsstation* (avbrytas)
- EZ1 DSP DNA-blodkort (kat.nr. 9017713)

För EZ1 Advanced-användare

- EZ1 Advanced arbetsstation* (avbrytas)
- EZ1 Advanced DSP DNA-blodkort (kat.nr. 9018305)

För användare av EZ1 Advanced XL

- EZ1 Advanced XL arbetsstation* (kat.nr. 9001492)
- EZ1 Advanced XL DSP DNA-blodkort (kat.nr. 9018702)

För användare av EZ1 Advanced och EZ1 Advanced XL

- För provspårning krävs ett av följande:
 - PC (inklusive skärm; QIAGEN PC, kat. nr. 9016310, och bildskärm, kat. nr. 9016308, eller din egen PC och bildskärm) med EZ1 Advanced Communicator Software (medföljande program till EZ1 Advanced och EZ1 Advanced XL-arbetsstationer)

* Se till att instrumenten kontrolleras, underhålls och kalibreras regelbundet enligt tillverkarens rekommendationer.

- Skrivare (kat.nr. 9018464) och tillbehörspaket för skrivare (kat.nr. 9018465)
- Valfritt: 80% etanol* och 2 ml rör med skruvkork (om de valfria tvättstegen med 80% etanol ska genomföras på EZ1 Advanced med V2.0 protokoll-card eller på EZ1 Advanced XL, se "Viktiga hänvisningar före start", sidan 34 och 37)

* Använd inte denaturerad sprit som innehåller andra substanser som exempelvis metanol eller metyletylketon.

Viktiga anmärkningar

Förvaring av blodprover

Helblodsprover som behandlats med EDTA, ACD eller heparin* kan användas och kan vara antingen färska eller frysta. Frysta prover bör tinas vid rumstemperatur (15–25 °C) och skakas försiktigt innan proceduren påbörjas. Utbyte och kvalitet av renat DNA beror på blodets förvaringsförhållanden. Färskare blodprover kan ge bättre resultat.

- För kortvarig förvaring (upp till 10 dagar) ska blodet samlas in i rör innehållande EDTA som antikoagulant, och rören förvaras vid 2–8 °C. För applikationer som kräver maximal fragmentstorlek, såsom Southern blotting, rekommenderar vi emellertid förvaring vid 2–8 °C endast upp till 3 dagar, eftersom en låg nivå av DNA-degradering sker efter denna tidpunkt.
- För långvarig förvaring ska blodet samlas in i rör innehållande en standard antikoagulant (företrädesvis EDTA, om DNA med hög molekylvikt krävs) och rören förvaras vid -70 °C.
- Använd inte blod som visar tecken på koagulation.

Utfällning i reagenskassetten (RCB)

Bufferten i brunn 1 med reagenskassetten (RCB) (brunnen som är närmast framsidan på EZ1-arbetsstationen när reagenskassetten (RCB) är laddad) kan bilda en utfällning vid förvaring. Reagenskassetten (RCB) ska bringas i jämvikt till rumstemperatur (15–25 °C) före användning. Lös vid behov upp igen genom försiktig omskakning vid 30–40 °C.

Arbeta med EZ1-arbetsstationer

De viktigaste funktionerna i EZ1-arbetsstationer inkluderar:

- Rening av högkvalitativa nukleinsyror från 1–6 eller 1-14 prover per körning
- Kräver litet utrymme för att spara laboratorietrymme
- Förprogrammerade EZ1 DSP Cards som innehåller protokoll som är klara att använda
- Förfyllda, förseglade reagenskassetter för enkel, säker och snabb installation av EZ1-arbetsstationer
- Kompletta automatisering av nukleinsyrarening

* Använd alltid laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Se lämpliga datablad för materialsäkerhet för ytterligare information, vilka kan erhållas av respektive tillverkare.

Ytterligare funktioner i EZ1 Advanced och EZ1 Advanced XL inkluderar:

- Streckkodsavläsning och provspårning
- Satsdataspårning med Q-kortet som medföljer satsen
- UV-lampa som hjälper till att eliminera kvarvarande prov och medger dekontamination.

i UV-dekontaminationen hjälper till att minska möjlig patogenkontamination av ytan på arbetsborden hos EZ1 Advanced och EZ1 Advanced XL. Effekten av inaktivering måste bestämmas för varje specifik organism och beror t.ex. på skiktjocklek och provtyp. QIAGEN kan inte garantera fullständig utrotning av specifika patogener.

EZ1 Cards

EZ1 DSP DNA blodprotokoll förvaras på förprogrammerade EZ1 Cards (integrerade kretskort). Användaren för bara in EZ1 Card i passande EZ1-arbetsstation och arbetsstationen är klart att köra protokollet (Figur 9 och 10).



Figur 9. Enkel protokollinstallation med EZ1 DSP Cards. Att föra in ett EZ1-Card innehållande protokoll i EZ1-arbetsstationen.

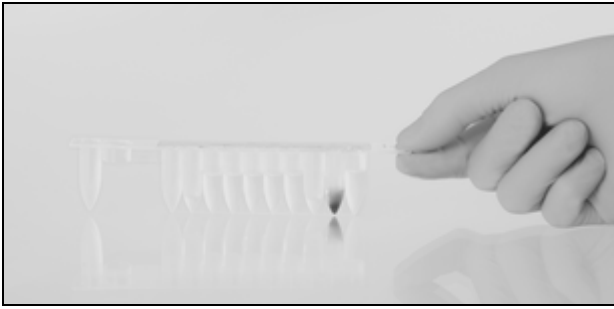
i Arbetsstationen bör endast slås på när ett EZ1 Card är isatt. Se till att EZ1-Card är helt isatt! Annars kan nödvändiga instrumentdata förloras, vilket leder till ett minnesfel. EZ1-Cards ska inte bytas när arbetsstationen är påslagen.



Figur 10. EZ1-Card helt isatt i EZ1 Card-facket.

Reagenskassetter (RCB)

Reagenser för rening av nukleinsyror från ett enskilt prov ryms i en enskild reagenskassett (RCB) (Figur 11, sid. 30). Varje brunn i kassetten (RCB) innehåller en speciell reagens, såsom magnetiska partiklar, lyseringsbuffert, tvättbuffert eller elueringsbuffert (AVE). Eftersom varje brunn endast innehåller den nödvändiga mängden reagens undviker man att ytterligare spill ansamlas vid slutet av varje reningsprocedur.

A**B**

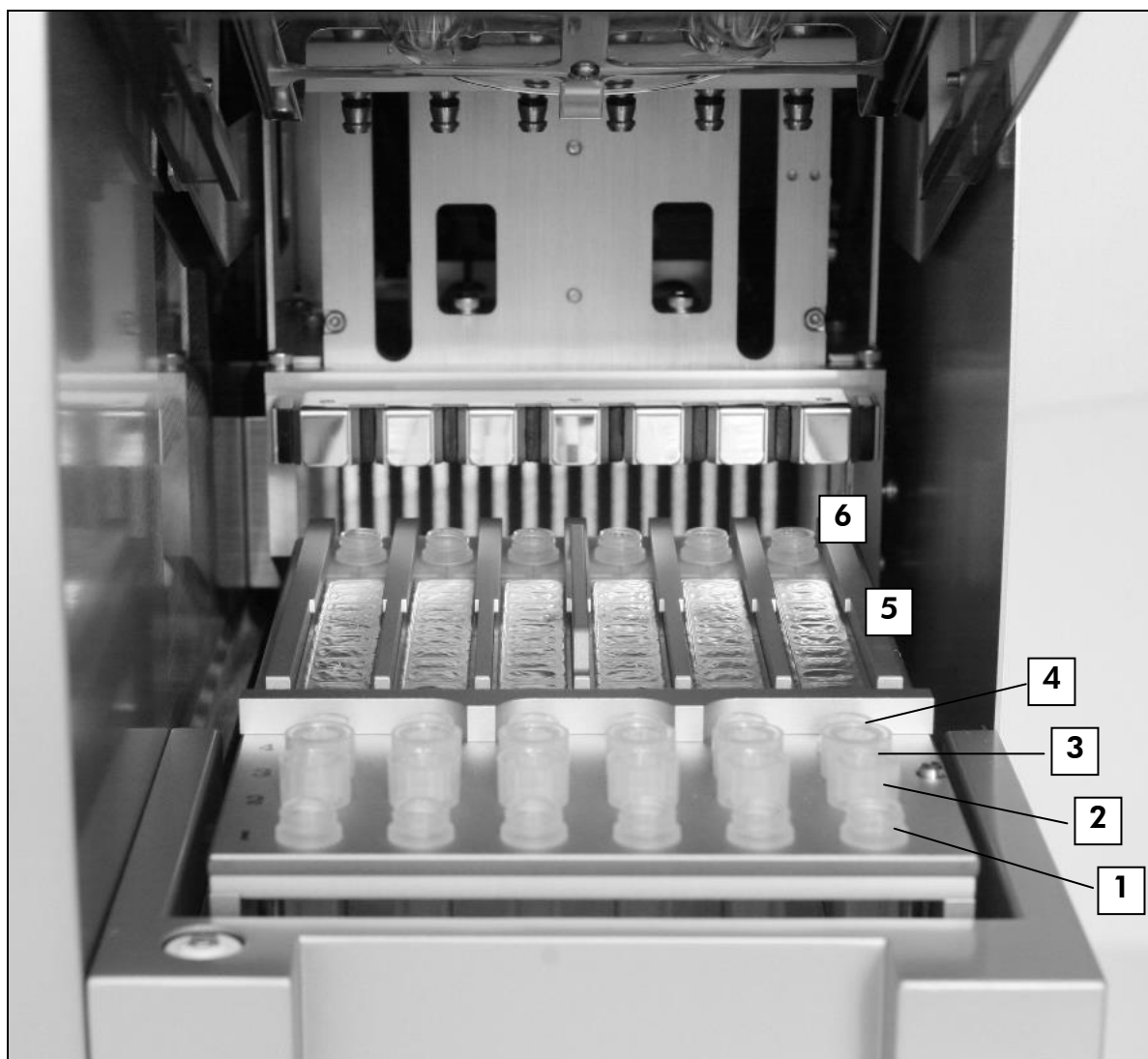
Figur 11. Enkel arbetsstationsinstallation med reagenskassetter (RCB). **A** En försluten, förfylld reagenskasset (RCB). **B** Ladda reagenskassetterna (RCB) i kassettfacket. Kassettfacket är märkt med en pil för att indikera den riktning i vilken reagenskassetterna (RCB) måste laddas.

Arbetsbord

Arbetsbordet på EZ1-arbetsstationen är den plats där användaren laddar prover och komponenterna för EZ1 DSP DNA-blodkit (Figur 12, sidan 31).

Information om arbetsbordets installation visas på den vakuumfluorescerande skärmen (VFD) på EZ1 Advanced eller EZ1 Advanced XL, eller på LCD-skärmen på BioRobot EZ1 DSP-kontrollpanelen när användaren påbörjar arbetsbordsinstallationen.

Instrumentdisplayen visar även protokollstatus under den automatiserade reningsproceduren.



Figur 12. Arbetsbord på EZ1-instrument

1. Elueringsrör (ET) (1,5 ml) laddade i första raden.
2. Spetshållare för engångsbruk (DTH) innehållande spetsar för engångsbruk (DFT) laddade i den andra raden.
3. Den tredje raden är tom för EZ1 DSP DNA-blodprotokollet. (Valfritt: Om de valfria tvättstegen med 80% etanol utförs, laddas 2 ml-rören innehållande vardera 1800 μ l med 80% etanol i denna rad.)
4. Provrör (ST) (2 ml) laddade i den fjärde raden.
5. Reagenskassetter (RCB) laddade i kassettfacket.
6. Värmeblocket är tom för EZ1 DSP DNA-blodprotokollet.


Dataspårning med EZ1 Advanced och EZ1 Advanced XL

EZ1 Advanced och EZ1 Advanced XL möjliggör komplett spårning av en rad data för ökad processkontroll och pålitlighet. EZ1 Kit-lotnummer och utgångsdatum anges i början av protokollet med Q-Card-streckkoden. Ett användar-ID och Q-Card-streckkoden kan anges manuellt med tangentbordet eller genom att skanna

streckkoderna med den handhållna streckkodsläsaren. Prov- och analysinformation kan också som alternativ skrivas in vid starten av protokollet. Vid slutet av varje protokollkörning skapas automatiskt en rapportfil. EZ1 Advanced och EZ1 Advanced XL kan lagra upp till 10 resultatfiler och data kan överföras till en PC eller skrivas ut på en skrivare (för beställningsinformation, se "Utrustning och reagenser som tillhandahålls av användaren", sidan 25).

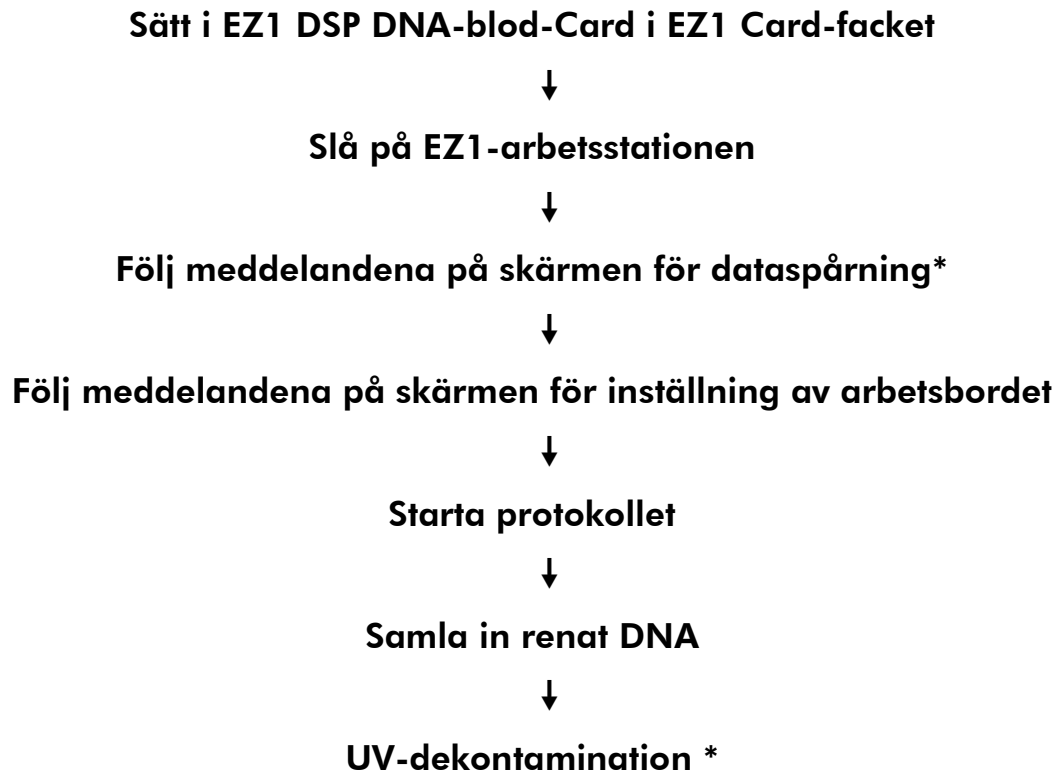
För att få rapportfilerna på en PC måste EZ1 Advanced-kommunikationsprogram installeras. Programmet mottar rapportfilen och lagrar den i den mapp som du definierar. Efter att PC:n har tagit emot rapportfilen kan du använda och bearbeta filen med ett LIMS (Laboratory Information Management System) eller andra program. Ett exempel på rapportfil visas i Bilaga D (sidan 80). I rapportfilerna namnges de 6 pipetteringskanalerna för EZ1 Advanced från vänster till höger, kanal A till F, eller de 14 pipetteringskanalerna för EZ1 Advanced XL namnges från vänster till höger, kanal 1-14.

Vid skanning av användar-ID eller Q-Cards streckkod med streckkodsläsaren, bekräftar ett pip-ljud datainmatningen. När informationen har visats i 2 sekunder sparas den automatiskt och nästa skärmmeddelande visas. Vid skanning av prov-ID, analyskit-ID eller anmärkningar bekräftar ett pop datainmatningen, informationen visas och ett meddelande ber dig ange nästa informationsuppgift. Efter skanning av prov-ID, analyskit-ID och anmärkningar, tryck på "ENT" en gång för att bekräfta att informationen är korrekt. Om till exempel fel streckkod skannades för ett av proverna, tryck på "ESC" och skanna om alla provstreckkoderna enligt instruktionerna på skärmen. För användar-ID och anmärkningar kan du ange numren med tangentbordet eller så kan du enkelt skapa dina egna streckkoder för att koda dessa nummer.

 För dataspårning, börja alltid att ladda prov i position A på EZ1 Advanced och position 1 på EZ1 Advanced XL. Placera de återstående proven efter varandra i nästa lediga plats på arbetsbordet.

För detaljer rörande spårning och användning av EZ1 Advanced Communicator programvara, se *Användarmanual för EZ1 Advanced* eller *Användarmanual för EZ1 Advanced XL*.

Arbetsflöde för EZ1 DSP DNA-blodfunktion



* Endast EZ1 Advanced och EZ1 Advanced XL.

Protokoll: Rening av genomiskt DNA från helblod med EZ1 Advanced XL

Viktigt att tänka på före start

- Om EZ1 DSP DNA-blodkitet används för första gången ska du läsa "Viktiga anmärkningar" på sidan 30.
- Reagenskassetterna (RCB) innehåller guanidinsalter och är därför inte kompatibla med desinfektionsmedel som innehåller blekmedel. Vidtag lämpliga säkerhetsåtgärder och använd handskar vid hantering. Se säkerhetsinformation på sidan 8.
- Utför alla moment i protokollet vid rumstemperatur (15–25 °C). Arbeta snabbt under inställningsproceduren.
- När du har fått kitet ska du kontrollera så att komponenterna inte är skadade. Om reagenskassetterna (RCB) eller andra satskomponenter är skadade, kontakta QIAGEN teknisk service eller din lokala distributör. I händelse av vätskespill, se "Varningar och försiktighet" (sidan 6 och 7). Använd inte skadade reagenskassetter (RCB) eller andra kitkomponenter, eftersom de kan försämra kitprestandan.
- Utbytet av genomiskt DNA beror på antalet vita blodkroppar i provet.

Saker som bör göras före start

- Lyseringsbufferten i reagenskassetten (RCB) kan bilda en fällning vid förvaring. Reagenskassetten (RCB) ska bringas i jämvikt till rumstemperatur (15–25 °C) före användning. Om det är nödvändigt, lös upp igen genom att värma vid 30–40°C och placera sedan i rumstemperatur.
- Protokollet inkluderar ett tillval att istället utföra tvättar med 80% etanol med bufferten som tillhandahålls i reagenskassetten. Detta kan vara fördelaktigt för vissa applikationer i senare led. Om detta alternativ väljs, bör 2 ml rör innehållande vardera 1800 µl 80% etanol placeras i rad 3 på arbetsbordet (se Figur 12, sidan 34). För preparation av 80% etanol, tillräckligt för 14 prover, tillsätt 6 ml nukleasfritt vatten till 24 ml 100% etanol.* Följ instruktionerna i meddelandena på skärmen.

* Använd inte denaturerad sprit som innehåller andra substanser som exempelvis metanol eller metyletylketon.

Procedur

1. Låt upp till 14 helblodsprover anta jämvikt vid rumstemperatur.

i Se till att prover som har varit nedfrysta tinas fullständigt och får anta jämvikt vid rumstemperatur under en tillräckligt lång tidsperiod. Om proverna har förvarats vid 2–8 °C, måste också de anta rumstemperatur. Temperaturen hos alla prover bör vara 15–25 °C innan proceduren startas, för att säkerställa optimalt utbyte av och renhet på DNA.

2. För in EZ1 Advanced XL DSP DNA-blodkortet fullständigt i öppningen för EZ1-Card på EZ1 Advanced XL

3. Slå på EZ1-arbetsstationen.

Strömbrytaren är belägen på baksidan av instrumentet.

4. Tryck på "START" för att starta inställning av arbetsbordet för EZ1 DSP DNA-blodprotokollet.

5. Följ anvisningarna på skärmen för inställning av arbetsbord, val av protokollvariabel samt dataspårning.

6. Tryck på "1" eller "2" för att starta inställningen av arbetsbordet för 200 µl DSP-protokollet eller 350 µl-protokollet, respektive.

7. Välj elueringsvolym: tryck på "1" för att eluera i 50 µl; "2" för att eluera i 100 µl; "3" för att eluera i 200 µl.

8. Välj om du önskar utföra de valfria 80% etanol-tvättarna.

Texten sammanfattar följande steg, vilka beskriver laddningen av arbetsbordet.

9. Öppna arbetsstationens lucka.

10. Vänd upp och ned på 1-14 reagenskassetter (RCB) 4 gånger för att blanda de magnetiska partiklarna. Knacka sedan på reagenskassetterna (RCB) för att fälla ut reagenserna på botten av brunnarna.

11. Ladda reagenskassetterna i kassettfacket.

i När du har fört in en reagenskasset (RCB) i kassettfacket, tryck ned kassetten tills den klickar på plats.

i För dataspårning, börja alltid att ladda prov i position 1 på EZ1 Advanced XL. Placera de återstående proven efter varandra i nästa lediga plats på arbetsbordet.

Vid användning av dataspårningsalternativet ska du säkerställa att prov-ID-numret följer samma ordning som proverna på arbetsbordet, för att undvika sammanblandning av data.

12. Följ instruktionerna på skärmen för ytterligare inställning av arbetsbordet.

13. Stäng arbetsstationens lucka.

14. Tryck på "START" för att starta protokollet.

15. När protokollet avslutas visar skärmen "Protokoll avslutat". Tryck på "ENT" för att generera rapportfilen.

EZ1 Advanced XL kan lagra upp till 10 rapportfiler. Rapportfilerna kan skrivas ut direkt på en ansluten skrivare eller överförs till en dator.

16. Öppna arbetsstationens lucka.

17. Ta bort elueringsrören innehållande det renade DNA:t från den första raden. Kassera vätskeavfallet.*

18. Valfritt: Följ instruktionerna på skärmen för att utföra UV-dekontamination på arbetsbordets ytor.

19. Utför den regelbundna underhållsproceduren enligt beskrivningarna i användarhandboken som medföljer din EZ1-arbetsstation.

Regelbundet underhåll måste utföras vid slutet av varje protokollkörning. Det består av rengöring av håltagningsenheten och arbetsbordets ytor.



Håltagningsenheten är vass! Två par handskar rekommenderas.

20. För att köra ett annat protokoll, tryck på "START", utför steg 1 och 2 i protokollet och följ sedan protokollet från steg 5. Tryck annars på "STOP" två gånger för att komma tillbaka till den första skärmen på displayen, stäng arbetsstationens lucka och stäng av EZ1-arbetsstationen.

Steg 3–4 är inte nödvändiga vid körning av ytterligare protokoll. Hoppa över dessa steg.

* Provavfall innehåller guanidinsalter och är därför inte kompatibelt med blekmedel. Se säkerhetsinformation på sidan 8.

Protokoll: Rening av genomiskt DNA från helblod med EZ1 Advanced (med V2.0 Card)

Det här protokollet är avsett att användas med EZ1 Advanced DSP DNA-blodkort V2.0, en uppdaterad version av det ursprungliga V1.0 Card. När V1.0 Card används, följ då "Protokoll: Rening av genomiskt DNA från helblod med EZ1 Advanced (med V1.0 Card)", sidan 41.

Protokollet på V2.0 Card innefattar ytterligare protokollalternativ som möjliggör användning av olika provinmatningar och elueringsvolymerna såväl som valfria tvättsteg med 80% etanol. Protokollet på V2.0 Card är detsamma som det ursprungliga V1.0 Card när de ursprungliga inmatnings- och elueringsvolymerna och tvättbuffertarna används.

Viktigt att tänka på före start

- Om EZ1 DSP DNA-blodkitet används för första gången ska du läsa "Viktiga anmärkningar" på sidan 30.
- Reagenskassetterna (RCB) innehåller guanidinsalter och är därför inte kompatibla med desinfektionsmedel som innehåller blekmedel. Vidtag lämpliga säkerhetsåtgärder och använd handskar vid hantering. Se säkerhetsinformation på sidan 8.
- Utför alla moment i protokollet vid rumstemperatur (15–25 °C). Arbeta snabbt under inställningsproceduren.
- När du har fått kitet ska du kontrollera så att komponenterna inte är skadade. Om reagenskassetterna (RCB) eller andra satskomponenter är skadade, kontakta QIAGEN teknisk service eller din lokala distributör. I händelse av vätskespill, se "Varningar och försiktighet" (sidan 6 och 7). Använd inte skadade reagenskassetter (RCB) eller andra kitkomponenter, eftersom de kan försämra kitprestandan.
- Utbytet av genomiskt DNA beror på antalet vita blodkroppar i provet.

Saker som bör göras före start

- Lyseringsbufferten i reagenskassetten (RCB) kan bilda en fällning vid förvaring. Reagenskassetten (RCB) ska bringas i jämvikt till rumstemperatur (15–25 °C) före användning. Om det är nödvändigt, lös upp igen genom att värma vid 30–40°C och placera sedan i rumstemperatur.

- Protokollet inkluderar ett tillval att istället utföra tvättar med 80% etanol med bufferten som tillhandahålls i reagenskassetten. Detta kan vara fördelaktigt för vissa applikationer i senare led. Om detta alternativ väljs, bör 2 ml rör innehållande vardera 1800 μ l 80% etanol placeras i rad 3 på arbetsbordet (se Figur 12, sidan 34). För preparation av 80% etanol, tillräckligt för 6 prover, tillsätt 3 ml nukleasfritt vatten till 12 ml 100% etanol.* Följ instruktionerna i meddelandena på skärmen.

Procedur

1. Låt upp till 6 helblodsprover anta jämvikt vid rumstemperatur.

i Se till att prover som har varit nedfrysade tillräckligt och får anta jämvikt vid rumstemperatur under en tillräckligt lång tidsperiod. Om proverna har förvarats vid 2–8 °C, måste också de anta rumstemperatur. Temperaturen hos alla prover bör vara 15–25 °C innan proceduren startas, för att säkerställa optimalt utbyte av och renhet på DNA.

2. För in EZ1 Advanced DSP DNA-blodkortet (V2.0) fullständigt i öppningen för EZ1-Card på EZ1 Advanced.

3. Slå på EZ1-arbetsstationen.

Strömbrytaren är belägen på baksidan av instrumentet.

4. Tryck på "START" för att starta inställning av arbetsbordet för EZ1 DSP DNA-blodprotokollet.

5. Följ anvisningarna på skärmen för inställning av arbetsbord, val av protokollvariabel samt dataspårning.

6. Tryck på "1" eller "2" för att starta inställningen av arbetsbordet för 200 μ l DSP-protokollet eller 350 μ l-protokollet, respektive.

7. Välj elueringsvolym: tryck på "1" för att eluera i 50 μ l; "2" för att eluera i 100 μ l; "3" för att eluera i 200 μ l.

8. Välj om du önskar utföra de valfria 80% etanol-tvättarna.

Texten sammanfattar följande steg, vilka beskriver laddningen av arbetsbordet.

9. Öppna arbetsstationens lucka.

10. Vänd upp och ned på 1–6 reagenskassetter (RCB) 4 gånger för att blanda de magnetiska partiklarna. Knacka sedan på reagenskassetterna (RCB) för att fälla ut reagenserna på botten av brunnarna.

11. Ladda reagenskassetterna i kassettfacket.

i När du har fört in en reagenskasset (RCB) i kassettfacket, tryck ned kassetten tills den klickar på plats.

* Använd inte denaturerad sprit som innehåller andra substanser som exempelvis metanol eller metyletylketon.

i För dataspårning, börja alltid att ladda prov i position A på EZ1 Advanced. Placera de återstående proven efter varandra i nästa lediga plats på arbetsbordet.

Vid användning av dataspårningsalternativet ska du säkerställa att prov-ID-numret följer samma ordning som proverna på arbetsbordet, för att undvika sammanblandning av data.

12. Följ instruktionerna på skärmen för ytterligare inställning av arbetsbordet.

13. Stäng arbetsstationens lucka.

14. Tryck på "START" för att starta protokollet.

15. När protokollet avslutas visar skärmen "Protokoll avslutat". Tryck på "ENT" för att generera rapportfilen.

EZ1 Advanced kan lagra upp till 10 rapportfiler. Rapportfilerna kan skrivas ut direkt på en ansluten skrivare eller överförs till en dator.

16. Öppna arbetsstationens lucka.

17. Ta bort elueringsrören innehållande det renade DNA:t från den första raden. Kassera vätskeavfallet.*

18. Valfritt: Följ instruktionerna på skärmen för att utföra UV-dekontamination på arbetsbordets ytor.

19. Utför den regelbundna underhållsproceduren enligt beskrivningarna i användarhandboken som medföljer din EZ1-arbetsstation.

Regelbundet underhåll måste utföras vid slutet av varje protokollkörning. Det består av rengöring av håltagningsenheten och arbetsbordets ytor.

i Håltagningsenheten är vass! Två par handskar rekommenderas.

20. För att köra ett annat protokoll, tryck på "START", utför steg 1 och 2 i protokollet och följ sedan protokollet från steg 5. Tryck annars på "STOP" två gånger för att komma tillbaka till den första skärmen på displayen, stäng arbetsstationens lucka och stäng av EZ1-arbetsstationen.

Steg 3–4 är inte nödvändiga vid körning av ytterligare protokoll. Hoppa över dessa steg.

* Provavfall innehåller guanidinsalter och är därför inte kompatibelt med blekmedel. Se säkerhetsinformation på sidan 6 och 7.

Protokoll: Rening av genomiskt DNA från helblod med EZ1 Advanced (med V1.0 Card)

Det här protokollet är avsett att användas med EZ1 Advanced DSP DNA-blodkort V1.0. När V2.0 Card används, följ "Protokoll: Rening av genomiskt DNA från helblod med EZ1 Advanced (med V2.0 Card)", sidan 37.

Protokollet på V2.0 Card innefattar ytterligare protokollalternativ som möjliggör användning av olika provinmatningar och elueringsvolymmer såväl som valfria tvättsteg med 80% etanol. Protokollet på V2.0 Card är detsamma som det ursprungliga V1.0 Card när de ursprungliga inmatnings- och elueringsvolymerna och tvättbuffertarna används.

Viktigt att tänka på före start


- Om EZ1 DSP DNA-blodkitet används för första gången ska du läsa "Viktiga anmärkningar" på sidan 27.
- Reagenskassetterna (RCB) innehåller guanidinsalter och är därför inte kompatibla med desinfektionsmedel som innehåller blekmedel. Vidtag lämpliga säkerhetsåtgärder och använd handskar vid hantering. Se säkerhetsinformation på sidan 6 och 7.
- Utför alla moment i protokollet vid rumstemperatur (15–25 °C). Arbeta snabbt under inställningsproceduren.
- När du har fått kitet ska du kontrollera så att komponenterna inte är skadade. Om reagenskassetterna (RCB) eller andra satskomponenter är skadade, kontakta QIAGEN teknisk service eller din lokala distributör. I händelse av vätskespill, se "Varningar och försiktighet" (sidan 6 och 7). Använd inte skadade reagenskassetter (RCB) eller andra kitkomponenter, eftersom de kan försämra kitprestandan.
- Utbytet av genomiskt DNA beror på antalet vita blodkroppar i provet.

Saker som bör göras före start

- Lyseringsbufferten i reagenskassetten (RCB) kan bilda en fällning vid förvaring. Reagenskassetten (RCB) ska bringas i jämvikt till rumstemperatur (15–25 °C) före användning. Om det är nödvändigt, lös upp igen genom att värma vid 30–40°C och placera sedan i rumstemperatur.

Procedur

1. Låt upp till 6 helblodsprover anta jämvikt vid rumstemperatur.

 Se till att prover som har varit nedfrysta tinas fullständigt och får anta jämvikt vid rumstemperatur under en tillräckligt lång tidsperiod. Om proverna har förvarats vid 2–8 °C, måste också de anta rumstemperatur. Temperaturen hos alla prover bör vara 15–25 °C innan proceduren startas, för att säkerställa optimalt utbyte av och renhet på DNA.

2. För in EZ1 Advanced DSP DNA-blodkortet (V1.0) fullständigt i öppningen för EZ1-Card på EZ1 Advanced.

3. Slå på EZ1-arbetsstationen.


Strömbrytaren är belägen på baksidan av instrumentet.


4. Tryck på "START" för att starta inställning av arbetsbordet för EZ1 DSP DNA-blodprotokollet.

5. Öppna arbetsstationens lucka.

6. Vänd upp och ned på 1–6 reagenskassetter (RCB) 4 gånger för att blanda de magnetiska partiklarna. Knacka sedan på reagenskassetterna (RCB) för att fälla ut reagenserna på botten av brunnarna.

7. Följ anvisningarna på skärmen för inställning av arbetsbord, val av protokollvariabel samt dataspårning.

 När du har fört in en reagenskasset (RCB) i kassettfacket, tryck ned kassetten tills den klickar på plats.

 För dataspårning, börja alltid att ladda prov i position A på EZ1 Advanced. Placera de återstående proven efter varandra i nästa lediga plats på arbetsbordet.

Vid användning av dataspårningsalternativet ska du säkerställa att prov-ID-numret följer samma ordning som proverna på arbetsbordet, för att undvika sammanblandning av data.

8. Stäng arbetsstationens lucka.

9. Tryck på "START" för att starta protokollet.

10. När protokollet avslutas visar skärmen "Protokoll avslutat". Tryck på "ENT" för att generera rapportfilen.

EZ1 Advanced kan lagra upp till 10 rapportfiler. Rapportfilerna kan skrivas ut direkt på en ansluten skrivare eller överföras till en dator.

11. Öppna arbetsstationens lucka.

12. Ta bort elueringsrören innehållande det renade DNA:t från den första raden. Kassera vätskeavfallet.*

* Provavfall innehåller guanidinsalter och är därför inte kompatibelt med blekmedel. Se säkerhetsinformation på sidan 6 och 7.

13. Valfritt: Följ instruktionerna på skärmen för att utföra UV-dekontamination på arbetsbordets ytor.

14. Utför den regelbundna underhållsproceduren enligt beskrivningarna i användarhandboken som medföljer din EZ1-arbetsstation.

Regelbundet underhåll måste utföras vid slutet av varje protokollkörning. Det består av rengöring av håltagningsenheten och arbetsbordets ytor.

 Håltagningsenheten är vass! Två par handskar rekommenderas.

15. För att köra ett annat protokoll, tryck på "START", utför steg 1 och 2 i protokollet och följ sedan protokollet från steg 5. Tryck annars på "STOP" två gånger för att komma tillbaka till den första skärmen på displayen, stäng arbetsstationens lucka och stäng av EZ1-arbetsstationen.

Steg 3–4 är inte nödvändiga vid körning av ytterligare protokoll. Hoppa över dessa steg.

Protokoll: Rening av genomiskt DNA från helblod med BioRobot EZ1 DSP

Viktigt att tänka på före start


- Om EZ1 DSP DNA-blodkitet används för första gången ska du läsa "Viktiga anmärkningar" på sidan 27.
- Reagenskassetterna (RCB) innehåller guanidinsalter och är därför inte kompatibla med desinfektionsmedel som innehåller blekmedel. Vidtag lämpliga säkerhetsåtgärder och använd handskar vid hantering. Se säkerhetsinformation på sidan 6 och 7.
- Utför alla moment i protokollet vid rumstemperatur (15–25 °C). Arbeta snabbt under inställningsproceduren.
- När du har fått kitet ska du kontrollera så att komponenterna inte är skadade. Om reagenskassetterna (RCB) eller andra satskomponenter är skadade, kontakta QIAGEN teknisk service eller din lokala distributör. I händelse av vätskespill, se "Varningar och försiktighet" (sidan 6 och 7). Använd inte skadade reagenskassetter (RCB) eller andra kitkomponenter, eftersom de kan försämra kitprestandan.
- Utbytet av genomiskt DNA beror på antalet vita blodkroppar i provet.

Saker som bör göras före start

- Lyseringsbufferten i reagenskassetten (RCB) kan bilda en fällning vid förvaring. Reagenskassetten (RCB) ska bringas i jämvikt till rumstemperatur (15–25 °C) före användning. Om det är nödvändigt, lös upp igen genom att värma vid 30–40°C och placera sedan i rumstemperatur.

Procedur

1. Låt upp till 6 helblodsprover anta jämvikt vid rumstemperatur.


 Se till att prover som har varit nedfrysta tinas fullständigt och får anta jämvikt vid rumstemperatur under en tillräckligt lång tidsperiod. Om proverna har förvarats vid 2–8 °C, måste också de anta rumstemperatur. Temperaturen hos alla prover bör vara 15–25 °C innan proceduren startas, för att säkerställa optimalt utbyte av och renhet på DNA.


2. För in EZ1 DSP DNA-blodkortet fullständigt i öppningen för EZ1-Card på BioRobot EZ1 DSP.

3. Slå på EZ1-arbetsstationen.

Strömbrytaren är belägen på baksidan av instrumentet.

4. Tryck på **“START”** för att starta inställning av arbetsbordet för EZ1 DSP DNA-blodprotokollet.
5. Öppna arbetsstationens lucka.
6. Vänd upp och ned på 1–6 reagenskassetter (RCB) 4 gånger för att blanda de magnetiska partiklarna. Knacka sedan på reagenskassetter (RCB) na för att fälla ut reagenserna på botten av brunnarna.
7. Följ instruktionerna på skärmen för inställning av arbetsbordet och val av protokollvariabel.

 När du har fört in en reagenskasset (RCB) i kassettfacket, tryck ned kassetten tills den klickar på plats.

 Om det är färre än 6 reagenskassetter (RCB) kan de laddas i valfri ordning på stället. När andra labbprodukter laddas måste man emellertid säkerställa att de också följer samma ordning.

8. Stäng arbetsstationens lucka.

9. Tryck på **“START” för att starta protokollet.**


När protokollet avslutas visar skärmen **“Protokoll avslutat”**.

10. Öppna arbetsstationens lucka.

11. Ta bort elueringsrören innehållande det renade DNA:t från den första raden. Kassera vätskeavfallet.*

12. Utför den regelbundna underhållsproceduren enligt beskrivningarna i användarhandboken som medföljer din EZ1-arbetsstation.

Regelbundet underhåll måste utföras vid slutet av varje protokollkörning. Det består av rengöring av håltagningsenheten och arbetsbordets ytor.

 Håltagningsenheten är vass! Två par handskar rekommenderas.

13. För att köra ett annat protokoll, tryck på **“START”, utför steg 1 och 2 i protokollet och följ sedan protokollet från steg 5. Tryck annars på **“STOP”** två gånger för att komma tillbaka till den första skärmen på displayen, stäng arbetsstationens lucka och stäng av EZ1-arbetsstationen.**

Steg 3–4 är inte nödvändiga vid körning av ytterligare protokoll. Hoppa över dessa steg.

* Provavfall innehåller guanidinsalter och är därför inte kompatibelt med blekmedel. Se säkerhetsinformation på sidan 6 och 7.

Felsökningsguide

Denna felsökningsguide kan vara användbar för att lösa eventuellt förekommande problem. För ytterligare information, se även sidan Frequently Asked Questions (Vanliga frågor) på vårt Tekniska supportcenter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Dessutom svarar teamet hos QIAGEN:s tekniska service gärna på frågor om informationen och protokollen i denna handbok eller prov- och analystekniker (för kontaktinformation, se baksidan eller gå in på www.qiagen.com).

Kommentarer och förslag

Allmän hantering

Felmeddelande på instrumentdisplayen

i Se användarhandboken som medföljer EZ1-arbetsstation.

Lågt DNA-utbyte

a) Magnetiska partiklar har inte återsuspenderats fullständigt

i Se till att du återsuspenderar de magnetiska partiklarna ordentligt innan du laddar reagenskassetterna (RCB) i hållaren.

b) Otillräcklig reagens aspirerad

i Efter att reagenskassetterna (RCB) vänts upp och ned för att återsuspendera de magnetiska partiklarna måste du knacka på kassetterna (RCB) för att fälla ut reagenserna på botten av brunnarna.

c) Nedfrysta blodprover har inte blandats ordentligt efter upptining

i Tina frysta blodprover i en inkubator * eller vattenbad* vid 30–40 °C medan du försiktigt skakar dem, för att säkerställa att de blandas ordentligt.

d) Utfällningar syns på botten av brunnarna i reagenskassetterna (RCB)

i Placera reagenskassetterna (RCB) i en skakinkubator och inkubera vid 30–40 °C med små rörelser i upp till 2 timmar. Använd inte reagenskassetterna (RCB) om utfällningarna inte löses upp.

* Se till att instrumenten kontrolleras, underhålls och kalibreras regelbundet enligt tillverkarens rekommendationer.

Kommentarer och förslag

DNA fungerar inte bra i enzymatiska reaktioner i senare led

- a) Otillräckligt DNA använt i påföljande applikation **i** Kvantifiera renat DNA med spektrofotometrisk mätning av absorbansen vid 260 nm (se "Kvantifiering av DNA", sidan 71).
- b) För mycket DNA använt i påföljande applikation **i** För mycket DNA kan hämma vissa enzymatiska reaktioner. Kvantifiera renat DNA med spektrofotometrisk mätning av absorbansen vid 260 nm (se "Kvantifiering av DNA", sidan 70).
- c) Inhibering av applikation i senare led **i** Vissa applikationer i senare led kan visa överlägsen prestation om tvättar med 80% etanol utförs istället för tvättar med buffertar i reagenskassetterna. Alternativet finns tillgängligt vid användning av EZ1 Advanced DSP DNA-blodkort V2.0 (se sidan 40) eller EZ1 Advanced XL DSP DNA-blodkort (se sidan 37).

Låg A_{260}/A_{280} -kvot för renade nukleinsyror

- Absorbansavläsning vid 320 nm ej subtraherad från absorbansavläsningarna som erhållits vid 260 nm och 280 nm **i** För att korrigera för närvaron av magnetiska partiklar i eluatet bör en absorbansavläsning vid 320 nm utföras och subtraheras från absorbansavläsningarna som erhållits vid 260 nm och 280 nm

Bilaga A: Skärmmeddelanden

Meddelanden som visas av programprotokollet under uppsättning av arbetsbordet, under protokollkörningen och efter protokollkörningen finns angivna i Tabell 6-9. Numren på meddelandena som anges nedan motsvarar numren på meddelandena som visas av programmet.

För generella felmeddelanden på EZ1-arbetsstationens skärm, se användarhandboken som medföljer din EZ1-arbetsstation.

Tabell 6. Meddelanden i EZ1 Advanced XL DSP DNA-blodprotokoll

Meddelandenummer	Meddelandetyp	EZ1 Advanced XL textmeddelande
Ingen	Vägledning	Datum/Tid START: Körning 1: UV 3: Test 2: Man 4: Inställningar
1	Vägledning	EZ1 Advanced XL DSP DNA Blod Version 1.0
2	Dataspårning	Ange användar-ID ENT: Next (Nästa):
3	Dataspårning	Ange Q-Card- streckkod ENT: Next (Nästa):
4	Vägledning	Fel kit! Ladda DSP DNA Blodkit ENT: Back (Tillbaka)
5	Vägledning	Kitet har gått ut! MMÅÅ: ENT: Använd nytt kit ESC: Stoppa protokoll
6	Dataspårning	Använd Q-Card-data med provnr. 1 till [X] Ange 1 till 14 ENT: Next (Nästa):

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 6. forts.

Meddelandenummer	Meddelandetyp	EZ1 Advanced XL textmeddelande
7	Dataspårning	Vill du bearbeta fler prover med en annan kitlot ENT: Yes (Ja), ESC: No (Nej)
8	Dataspårning	Vill du lägga till prov-ID? ENT: Yes (Ja) ESC: No (Nej)
9	Dataspårning	Skanna/skriv in prov-ID för prov nr. [x] ENT: Next (Nästa)
10	Dataspårning	Vill du kontrollera prov-ID? ENT: Yes (Ja) ESC: No (Nej)
11	Dataspårning	ID 1: ID 2: ID 3: NER: Next (Nästa)
12	Dataspårning	ID 4: ID 5: ID 6: NER: Next (Nästa), UPP: Back (Tillbaka)
13	Dataspårning	ID 7: ID 8: ID 9: NER: Next (Nästa), UPP: Back (Tillbaka)
14	Dataspårning	ID 10: ID 11: ID 12: NER: Next (Nästa), UPP: Back (Tillbaka)

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 6. forts.

Meddelandenummer	Meddelandetyp	EZ1 Advanced XL textmeddelande
-------------------------	----------------------	---------------------------------------

15	Dataspårning	ID 13: ID 14: ESC: Skanna om ENT: Next (Nästa), UPP: Back (Tillbaka)
16	Dataspårning	Vill du lägga till analysinformation? ENT: Yes (Ja), ESC: No (Nej)
17	Dataspårning	Skanna/skriv in prov-ID för provnr [x] ENT: Next (Nästa):
18	Dataspårning	Vill du kontrollera prov-ID? ENT: Yes (Ja) ESC: No (Nej)
19	Dataspårning	Vill du lägga till anmärkningar? ENT: Yes (Ja) ESC: No (Nej)
20	Dataspårning	Skanna/skriv in anmärkningar för prov nr. [x] ENT: Next (Nästa):
21	Dataspårning	Vill du kontrollera anmärkningar? ENT: Yes (Ja) ESC: No (Nej)
22	Vägledning	Välj protokoll 1 : 200 ul DSP Blod 2: 350 ul DSP Blod Välj 1 eller 2

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 6. forts.

Meddelandenummer Meddelandetyper EZ1 Advanced XL textmeddelande

23	Vägledning	Välj eluerings- volym: 1: 50 ul 3: 200 ul	2: 100 ul
24	Vägledning	Ren etanol- tvätt? 1: Nej Välj 1 eller 2	2: Ja
25	Vägledning	Du har valt: [xxx]ul blod, EtOH [xxx]ul eluering ENT: Next (Nästa), ESC: Back (Tillbaka)	
26	Vägledning	Ladda kassetter vid samma position som prov ENT: Next (Nästa), ESC: Back (Tillbaka)	
27	Vägledning	Ladda eluerings- rör (ET) (1,5 ml) i första raden ENT: Next (Nästa), ESC: Back (Tillbaka)	
28	Vägledning	Ladda spetshållare (DTH) och spetsar (DFT) i den andra raden ENT: Next (Nästa), ESC: Back (Tillbaka)	
29	Vägledning	Ladda 2 ml rör med 1800 ul 80% EtOH i tredje raden ENT: Next (Nästa), ESC: Back (Tillbaka)	
30	Vägledning	Ladda 2 ml-rör (ST) med prover i fjärde raden ENT: ENT: Next (Nästa), ESC: Back (Tillbaka)	

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 6. forts.

Meddelandenummer Meddelandetyp EZ1 Advanced XL textmeddelande

31	Vägledning	Laddning avslutad Stäng luckan och tryck på START ESC: Back (Tillbaka)
32	Vägledning	Vänligen stäng luckan! ENT: Next (Nästa)
33	Status	Protokoll startat
34	Status	Håltagningsfolie [x] av [x] min. kvar
35	Status	Insamling av elueringsbuffert [x] av [x] min. kvar
36	Status	Levererar vid värmeblock [x] av [x] min. kvar
37	Status	Insamling av mikrosfärer [x] av [x] min. kvar
38	Status	Resuspension av mikrosfärer [x] av [x] min. kvar
39	Status	Insamling av lyseringsbuffert [x] av [x] min. kvar
40	Status	Blandar lysat [x] av [x] min. kvar

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 6. forts.

Meddelandenummer	Meddelandetyper	EZ1 Advanced XL textmeddelande
41	Status	Insamling av mikrosfärer [x] av [x] min. kvar
42	Status	DNA binder till mikrosfärer Magnetisk separation [x] av [x] min. kvar
43	Status	Tvätt 1 Magnetisk separation [x] av [x] min. kvar
44	Status	Tvätt 2 Magnetisk separation [x] av [x] min. kvar
45	Status	Tvätt 3 Magnetisk separation [x] av [x] min. kvar
46	Status	Tvätt 4 Magnetisk separation [x] av [x] min. kvar
47	Status	Sköljning [x] av [x] min. kvar
48	Status	Kontrollerar temp. Ställ in: Akt: [x] av [x] min. kvar
49	Status	Eluering [x] av [x] min. kvar
50	Vägledning	Protokoll avslutat! ENT: Next (Nästa)

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 6. forts.

Meddelandenummer	Meddelandetyp	EZ1 Advanced XL textmeddelande
51	Status	Överför rapportfil Försök nr.
52	Ingen	
Ingen	Vägledning	SKICKA RAPPORT Utskrift OK? 1: OK 2: Inte ok ESC: Back (Tillbaka)
53	Status	Rapportfil skickad ENT: Next (Nästa)
54	Status	Rapportfilen kunde inte skickas ENT: Skicka igen
55	Vägledning	Utföra UV-körning? ENT: Yes (Ja) ESC: No (Nej)
56	Vägledning	Avlägsna eluat och förbrukningsvaror från arbetsbordet ENT: Next (Nästa)
57	Vägledning	UV-lampan slocknar snart UV-körningar kvar: ENT: Next (Nästa)
58	Vägledning	UV-lampor har slocknat ENT: Next (Nästa) ESC: Abort (Avbryt)

59	Vägledning	UV-dekontamination. Ange värde 20 till 60 ENT: Next (Nästa)
----	------------	---

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 6. forts.

Meddelandenummer	Meddelandetyper	EZ1 Advanced XL textmeddelande
60	Vägledning	UV dekontaminations- tiden måste vara mellan 20-60 min ESC: Back (Tillbaka)
61	Vägledning	UV-lampan tändes inte! ESC: Back (Tillbaka)
62	Vägledning	UV-dekontamination Total tid: min Tid kvar: min
63	Status	Dekontamination UV-lampan svalnar Vänta
64	Vägledning	Utför regelbundet underhåll efter varje körning ESC: Huvudmeny

Tabell 7. Meddelanden i EZ1 Advanced DSP DNA Blodprotokoll (V2.0)

Meddelandenummer	Meddelandetyp	EZ1 Advanced textmeddelande (V2.0 protokoll)
Ingen	Vägledning	Datum/tid: START:Körning 1:UV 2:Man 3:Test 4:Inställning Tangent: START,1,2,3,4
1	Vägledning	EZ1 Advanced DSP DNA Blod Version 2.0
2	Dataspårning	Ange användar-ID ENT: Next (Nästa)
3	Dataspårning	Ange Q-Card- streckkod ENT: Next (Nästa)
4	Vägledning	Fel kit! Ladda DSP DNA Blodkit ENT: Back (Tillbaka)
5	Vägledning	Kitet har gått ut! MMÅÅ: ENT: Använd nytt kit ESC: Stoppa protokoll
6	Dataspårning	Använd Q-Card-data med provnr. 1 till [X] Ange 1 till 6 ENT: Next (Nästa)
7	Dataspårning	Vill du bearbeta fler prover med en annan kitlot ENT: Yes (Ja), ESC: No (Nej)

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 7. forts.

Meddelandenummer	Meddelandetyp	EZ1 Advanced textmeddelande (V2.0 protokoll)
8	Dataspårning	Vill du lägga till prov-ID? ENT: Yes (Ja) ESC: No (Nej)
9	Dataspårning	Skanna/skriv in prov-ID för prov nr. [x] ENT: Next (Nästa)
10	Dataspårning	Vill du kontrollera prov-ID? ENT: Yes (Ja) ESC: No (Nej)
11	Dataspårning	ID 1: ID 2: ID 3: NER: Next (Nästa)
12	Dataspårning	ID 4: ID 5: ID 6: ENT:Next (Nästa); Esc:Skanna igen
13	Ingen	
14	Ingen	
15	Ingen	
16	Dataspårning	Vill du lägga till analysinformation? ENT: Yes (Ja), ESC: No (Nej)
17	Dataspårning	Skanna/skriv in prov-ID för provnr [x] ENT: Next (Nästa)

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 7. forts.

		EZ1 Advanced textmeddelande (V2.0 protokoll)	
Meddelandennummer	Meddelandetyp		
18	Dataspårning	Vill du kontrollera prov-ID? ENT: Yes (Ja) ESC: No (Nej)	
19	Dataspårning	Vill du lägga till anmärkningar? ENT: Yes (Ja) ESC: No (Nej)	
20	Dataspårning	Skanna/skriv in anmärkningar för prov nr. [x] ENT: Next (Nästa)	
21	Dataspårning	Vill du kontrollera anmärkningar? ENT: Yes (Ja) ESC: No (Nej)	
22	Vägledning	Välj protokoll 1 : 200 ul DSP Blod 2: 350 ul DSP Blod Välj 1 eller 2	
23	Vägledning	Välj eluerings- volym: 1: 50 ul 3: 200 ul	2: 100 ul
24	Vägledning	Ren etanol- tvätt? 1: Nej Välj 1 eller 2	2: Ja
25	Vägledning	Du har valt: [xxx]ul blod, EtOH [xxx]ul eluering ENT: Next (Nästa), ESC: Back (Tillbaka)	

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 7. forts.

Meddelandenummer	Meddelandetyp	EZ1 Advanced textmeddelande (V2.0 protokoll)
26	Vägledning	Ladda kassetter vid samma position som prov ENT: Next (Nästa), ESC: Back (Tillbaka)
27	Vägledning	Ladda elueringsrör (ET) (1,5 ml) i första raden ENT: Next (Nästa), ESC: Back (Tillbaka)
28	Vägledning	Ladda spetshållare (DTH) och spetsar (DFT) i den andra raden ENT: Next (Nästa), ESC: Back (Tillbaka)
29	Vägledning	Ladda 2 ml rör med 1800 ul 80% EtOH i tredje raden ENT: Next (Nästa), ESC: Back (Tillbaka)
30	Vägledning	Ladda 2 ml-rör (ST) med prover i fjärde raden ENT: Next (Nästa), ESC: Back (Tillbaka)
31	Vägledning	Laddning avslutad Stäng luckan och tryck på START ESC: Back (Tillbaka)
32	Vägledning	Vänligen stäng luckan! ENT: Next (Nästa)
33	Status	Protokoll startat
34	Status	Håltagningsfolie [x] av [x] min. kvar

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 7. forts.

Meddelandenummer	Meddelandetyp	EZ1 Advanced textmeddelande (V2.0 protokoll)
35	Status	Insamling av elueringsbuffert [x] av [x] min. kvar
36	Status	Levererar vid värmeblock [x] av [x] min. kvar
37	Status	Insamling av mikrosfärer [x] av [x] min. kvar
38	Status	Återsuspension av mikrosfärer [x] av [x] min. kvar
39	Status	Uppsamling av lyseringsbuffert [x] av [x] min. kvar
40	Status	Blandar lysat [x] av [x] min. kvar
41	Status	Insamling av mikrosfärer [x] av [x] min. kvar
42	Status	DNA binder till mikrosfärer Magnetisk separation [x] av [x] min. kvar
43	Status	Tvätt 1 Magnetisk separation [x] av [x] min. kvar
44	Status	Tvätt 2 Magnetisk separation [x] av [x] min. kvar

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 7. forts.

		EZ1 Advanced textmeddelande (V2.0)	
Meddelandennummer	Meddelandetyp	protokoll)	
45	Status	Tvätt 3 Magnetisk separation [x] av [x] min. kvar	
46	Status	Tvätt 4 Magnetisk separation [x] av [x] min. kvar	
47	Status	Sköljning [x] av [x] min. kvar	
48	Status	Kontrollerar temp. Ställ in: Akt: [x] av [x] min. kvar	
49	Status	Eluering [x] av [x] min. kvar	
50	Vägledning	Protokoll avslutat! ENT: Next (Nästa)	
51	Status	Överför rapportfil Försök nr.	
52	Ingen		
Ingen	Vägledning	SKICKA RAPPORT Utskrift OK? 1=OK Tangent: 1, 2, ESC	
53	Status	Rapportfil skickad ENT: Next (Nästa)	
54	Status	Rapportfilen kunde inte skickas ENT: Skicka igen	

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 7. forts.

Meddelandenummer	Meddelandetyp	EZ1 Advanced textmeddelande (V2.0 protokoll)	
55	Vägledning	Utföra UV-körning? ENT: Yes (Ja) ESC: (No) Nej	
56	Vägledning	Avlägsna eluat och förbrukningsvaror från arbetsbordet ENT: Next (Nästa)	
57	Vägledning	UV-lampan slocknar snart UV-körningar kvar: ENT: Next (Nästa)	
58	Vägledning	UV-lampor har slocknat ENT: Next (Nästa) ESC: Abort (Avbryt)	
59	Vägledning	UV-dekontamination. värde 20 till 60 ENT: Next (Nästa)	Ange
60	Vägledning	UV dekontaminations-tiden måste vara mellan 20-60 min ESC: Back (Tillbaka)	
61	Vägledning	UV-lampan tändes inte! ESC: Back (Tillbaka)	
62	Vägledning	UV-dekontamination Total tid: min Tid kvar: min	

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 7. forts.

Meddelandenummer	Meddelandetyp	EZ1 Advanced textmeddelande (V2.0 protokoll)
63	Status	Dekontamination UV-lampan svalnar Vänta
64	Vägledning	Utför regelbundet underhåll efter varje körning ESC: Huvudmeny

Tabell 8. Meddelanden i EZ1 Advanced DSP DNA Blodprotokoll (V1.0)

Meddelandennummer	Meddelandetyp	EZ1 Advanced textmeddelande (V1.0 protokoll)
Ingen	Vägledning	Datum/Tid START: Körning 1: UV 2: Man 3: Test 4: Inställnings- knapp: START, 1, 2, 3, 4
1	Vägledning	EZ1 Advanced DSP DNA blod Version 1.0
2	Dataspårning	Skanna/mata in användar-ID
3	Dataspårning	Skanna/mata in Q-kortets streckkod
4	Vägledning	Fel kit! Ladda EZ1 DSP DNA blod ENT: Back (Tillbaka)
5	Vägledning	Kitet har gått ut ENT: Använd nytt kit ESC: Stoppa protokoll
6	Dataspårning	Använd Q-Card-data med prov nr 1 för att mata in 1 till 6
7	Vägledning	Vill du bearbeta fler prover med ett annat satslotnummer ENT: Yes (Ja), ESC: No (Nej)
8	Dataspårning	Vill du lägga till prov-ID? ENT: Yes (Ja) ESC: No (Nej)
9	Dataspårning	Skanna/mata in prov-ID provnr [x]

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 8. forts.

Meddelandenummer	Meddelandetyp	EZ1 Advanced textmeddelande (V1.0 protokoll)
10	Dataspårning	ID1: ID2: ID3: Next (Nästa) =ENT
11	Dataspårning	ID1: ID2: ID3: Next (Nästa) =ENT, ID1-3=Up
12	Dataspårning	Vill du lägga till analysinformation? ENT: Yes (Ja), ESC: No (Nej)
13	Dataspårning	Skanna/mata in analys-ID provnr [x]
14	Dataspårning	Vill du lägga till anmärkningar? ENT: Yes (Ja) ESC: No (Nej)
15	Dataspårning	Skanna/mata in kommentarer provnr [x]
16	Vägledning	Protokollet använder Provolym: 350 ul Elueringsvolym: 200 ul Next=Any (Nästa=vilken som helst)
17	Vägledning	Ladda kassetterna i samma positioner som proverna Next=Any (Nästa=vilken som helst), Prev=Esc (Föreg=Esc)
18	Vägledning	Ladda elueringsrör (ET) (1,5 ml) i första raden Next=Any (Nästa=vilken som helst), Prev=Esc (Föreg=Esc)

19	Vägledning	Ladda spetshållarna (DTH) och spetsarna (DFT) i den andra raden Next=Any (Nästa=vilken som helst), Prev=Esc (Föreg=Esc)
20	Vägledning	Lämna tredje raden tom Next=Any (Nästa=vilken som helst), Prev=Esc (Föreg=Esc)

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 8. forts.

		EZ1 Advanced textmeddelande (V1.0)
Meddelandennummer	Meddelandetyp	protokoll)
21	Vägledning	Ladda 2,0 ml rör (ST) med prov i den fjärde raden Next=Any (Nästa=vilken som helst), Prev=Esc (Föreg=Esc)
22	Vägledning	Laddning klar. Stäng luckan och tryck på START Prev=Esc (Föreg=Esc)
23	Vägledning	Stäng luckan!
24	Status	Protokoll startat
25	Status	Håltagningsfolie [x] av 23 min kvar
26	Status	Insamling av elueringsbuffert [x] av 23 min kvar
27	Status	Levererar vid värmeblock [x] av 23 min kvar
28	Status	Insamling av magnetiska kulor [x] av 23 min kvar
29	Status	Återsuspendering av magnetiska kulor [x] av 23 min kvar
30	Status	Lägger till lyseringsbuffert [x] av 23 min kvar

31	Status	Blandar lysat [x] av 23 min kvar
32	Status	Tillsätter magnetiska kulor [x] av 23 min kvar
33	Status	DNA-bindning till magnetiska kulor Magnetisk separation [x] av 23 min kvar

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 8. forts.

Meddelandenummer	Meddelandetyp	EZ1 Advanced textmeddelande (V1.0 protokoll)
34	Status	Tvätt 1 Magnetisk separation [x] av 23 min kvar
35	Status	Tvätt 2 Magnetisk separation [x] av 23 min kvar
36	Status	Tvätt 3 Magnetisk separation [x] av 23 min kvar
37	Status	Tvätt 4 Magnetisk separation [x] av 23 min kvar
38	Status	Sköljning [x] av 23 min kvar
39	Status	Kontrollerar temperatur Ställ in: Akt:

40	Status	Eluering [x] av 23 min kvar
41	Vägledning	Protokoll fullbordat
42	Dataspårning	Överföring av rapportfil, försök nr
43	Vägledning	Rapportfil skickad Next (Nästa) =ENT
44	Vägledning	Rapportfilen kunde inte skickas Skicka igen=ENT

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 8. forts.

		EZ1 Advanced textmeddelande (V1.0 protokoll)	
Meddelandenummer	Meddelandetyp		
45	Vägledning	Utföra UV-körning? ENT: Yes (Ja) ESC: No (Nej)	
46	Vägledning	UV-DEKONTAMINATION Ställ in tid min Knapp: 0-9, ENT	
47	Vägledning	UV-lampan går snart ut UV-körningar kvar ENT=continue (ENT=fortsätt)	
48	Vägledning	UV-lampan har slocknat ENT=continue (ENT=fortsätt) ESC=abort (ESC=avbryt)	
49	Vägledning	UV-DEKONTAMINATION Tiden måste vara mellan 20-60 min Tangent:ESC	
50	Vägledning	UV-DEKONTAMINATION Total tid: min Tid kvar: min	
51	Vägledning	Dekontamination UV-lampan svalnar Vänta	

52

Vägledning

Utför regelbundet underhåll före nästa körning!
ESC=Huvudmeny

Table 9. Meddelanden i BioRobot EZ1 DSP DNA Blodprotokoll

Meddelandennummer	Meddelandetyp	BioRobot EZ1 DSP meddelandetext
Ingen	Vägledning	Välj knapp: START: Protokoll 1 : Verktyg 2: Tests (tester)
1	Vägledning	EZ1 DSP DNA blod Version 1.0.0
2	Vägledning	Protokollet använder Provolym: [Provolym] ul Elueringsvolym: [Elueringsvolym] ul Next=Any (Nästa=vilken som helst)
3	Vägledning	Ladda tillräckligt många kassetter (RCB) för prover Next=Any (Nästa=vilken som helst), Prev=ESC (Föreg=Esc)
4	Vägledning	Ladda elueringsrör (ET) (1,5 ml) i första raden Next=Any (Nästa=vilken som helst), Prev=Esc (Föreg=Esc)
5	Vägledning	Ladda spetshållarna (DTH) och spetsarna (DFT) i den andra raden Next=Any (Nästa=vilken som helst), Prev=Esc (Föreg=Esc)
6	Vägledning	Lämna tredje raden tom Next=Any (Nästa=vilken som helst), Prev=Esc (Föreg=Esc)
7	Vägledning	Ladda 2,0 ml rör (ST) med prov i den fjärde raden Next=Any (Nästa=vilken som helst), Prev=Esc (Föreg=Esc)
8	Vägledning	Starta protokoll Tryck på START Prev=Esc (Föreg=Esc)
9	Status	Protokoll startat
10	Status	Håltagningsfolie

11	Status	Insamling av elueringsbuffert
12	Status	Levererar vid värmeblock
13	Status	Insamling av magnetiska kulor
14	Status	Återsuspendering av magnetiska kulor

Tabellen fortsätter på nästa sida.

Tabell 9. forts.

Meddelandenummer	Meddelandetyp	BioRobot EZ1 DSP meddelandetext
15	Status	Lägger till lyseringsbuffert
16	Status	Blandar lysat
17	Status	Tillsätter magnetiska kulor
18	Status	DNA-bindning till magnetiska kulor Magnetisk separation
19	Status	Tvätt 1 Magnetisk separation
20	Status	Tvätt 2 Magnetisk separation
21	Status	Tvätt 3 Magnetisk separation
22	Status	Tvätt 4 Magnetisk separation
23	Status	Sköljning
24	Status	Kontrollera temperatur Inställd: 65 [grader] Nuv.: [grader]
25	Status	Eluering
26	Vägledning	Protokoll avslutat! Tryck på ESC för att återgå till menyn

Bilaga B: Förvaring, kvantifiering och bestämning av renhet på DNA

Förvaring av DNA

Renat DNA kan lagras vid 2–8°C eller vid –20°C upp till 24 månader. För längre förvaring bör eluat förvaras vid –70 °C.

Kvantifiering av DNA

Koncentrationen av DNA skall bestämmas genom mätning av absorbansen i en spektrofotometer vid 260 nm (A_{260}). Absorbansavläsningar vid 260 nm bör vara mellan 0,1 och 1,0 för att vara korrekta. En absorbansenhet vid 260 nm motsvarar en koncentration på 50 µg av DNA per ml ($A_{260} = 1 \Rightarrow 50 \mu\text{g/ml}$). Använd buffert med neutralt pH (t.ex. 10 nM Tris·Cl, * pH 7,0) för att späda proven och kalibrera spektrofotometern.† Rester av magnetiska partiklar i eluatet kan påverka A_{260} -avläsningen, men bör inte påverka prestanda av DNA i applikationer i senare led. Om renat DNA ska analyseras med fluorescerande kapillär sekvensering, bör röret som innehåller eluatet först appliceras på lämplig magnetisk separator och eluatet därefter överförs till ett rent rör (se nedan).

För att kvantifiera isolerat DNA med EZ1-systemet:

- Placera röret innehållande DNA i en lämplig magnetisk separator (t.ex. QIAGEN 12-Tube Magnet, kat.nr. 36912) i 1 minut. Om en lämplig magnetisk separator inte är tillgänglig ska röret innehållande DNA centrifugeras i 1 minut vid hög hastighet i en mikrocentrifug för att pellettera eventuella återstående magnetiska partiklar.
- När separationen är fullbordad ska du försiktigt dra ut 10-50 µl isolerat DNA och späda detta till en slutlig volym på 100 µl i buffert med neutralt pH.
- Mät absorbansen vid 320 nm och 260 nm. Subtrahera absorbansavläsningen som erhållits vid 320 nm från avläsningen som erhållits vid 260 nm för att korrigera för närvaron av magnetiska partiklar.

Koncentration av DNA-prov = $50 \mu\text{g/ml} \times (A_{260} - A_{320}) \times \text{utspädningsfaktor}$

Total mängd isolerat DNA = koncentration x volym av prov i milliliter

* Använd alltid laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Se lämpliga datablad för materialsäkerhet för ytterligare information, vilka kan erhållas av respektive tillverkare.

† Använd vatten för att kalibrera spektrofotometern om proverna inte är utspädda.

Renhet av DNA

Renhet bestäms genom att beräkna kvoten mellan korrigerad absorbans vid 260 nm och korrigerad absorbans vid 280 nm, d.v.s. $(A_{260} - A_{320}) / (A_{280} - A_{320})$. Rent DNA har en $A_{260} - A_{280}$ -kvot på 1,7–1,9. Använd buffert med lätt alkaliskt pH (t.ex. 10 mM Tris·Cl, pH 7,5) för att späda proverna och för att kalibrera spektrofotometern.* Om proverna inte är spädda, använd vatten för att kalibrera spektrofotometern.

* Använd alltid laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Se lämpliga datablad för materialsäkerhet för ytterligare information, vilka kan erhållas av respektive tillverkare.

Bilaga C: Provblad för användning med EZ1 DSP DNA Blodsystem

Denna provbladsmall kan vara användbar för registrering vid användning av EZ1 DSP DNA blodprocedur. Detta blad kan fotokopieras och märkas med beskrivning av proverna och detaljerna avseende körningen.

EZ1 DSP DNA-blodsystem

Datum/tid: _____ Satsens lotnummer: _____

Användare: _____ Körnings-ID: _____

Arbetsstationens serienummer: _____

Position på arbetsbord	Prov-ID	Prov-material	RCB tillgänglig?	ST tillgänglig?	ET tillgänglig?	DTH med DFT tillgänglig?
1 (vänster)						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14 (höger)						

Bilaga D: Exempel på en EZ1 Advanced rapportfil

Denna bilaga visar en typisk rapportfil som genererats på EZ1 Advanced. Värdena för varje parameter skiljer sig från den rapportfil som genererats på EZ1 Advanced. Rapportfiler som skapats på EZ1 Advanced XL visar motsvarande information och skiljer sig åt endast beträffande kanalnummer.

Rapportfil EZ1 Advanced:

Serienr. EZ1 Advanced:,"6987"

Användar-ID:,"555"

Inbyggd programvaruversion:,"V 1.0.0"

Installationsdatum för arbetsstationen:,"5 okt., 2007"

Veckovist underhåll utfört den:,"29 juli, 2009"

Årligt underhåll utfört den: ,"24 mars, 2009"

Datum för sista UV-körning:,"31 mars, 2009"

Sista UV-körning startades:,"10:59"

Sista UV-körning avslutades:,"10:59"

Status för sista UV-körning :,"OK"

Protokollnamn:,"DSP DNA Blood Version 2.0"

,"DSP DNA-blod 350"

Datum för körningen:,"5 aug., 2009"

Körningsstart:,"07:58"

Slut på körning: ,"08:28"

Statuskörning:,"OK"

Felkod:,"---"

Prov-indata volym [ul]:,"350"

Elueringsvolym [ul]:,"200"

Kanal A:

Prov-ID:,"1"

Reagensets kitnummer:,"9900801"

Reagensens lotnummer:,"0133203571"

Reagensets utgångsdatum:,"1209"

Analyskit-ID:,"1"

Anmärkning:,"1"

Kanal B:

Prov-ID:,"2"

Reagensets kitnummer:,"9900801"

Reagensens lotnummer:,"0133203571"

Reagensets utgångsdatum:,"1209"

Analyskit-ID:,"2"

Anmärkning:,"2"

Kanal C:

Prov-ID:,"3"

Reagensets kitnummer:,"9900801"

Reagensens lotnummer:,"0133203571"

Reagensets utgångsdatum:,"1209"

Analyskit-ID:,"3"

Anmärkning:,"3"

Kanal D:

Prov-ID;,"4"
Reagensets kitnummer;,"9900801"
Reagensens lotnummer;,"0133203571"
Reagensets utgångsdatum;,"1209"
Analyskit-ID;,"4"
Anmärkning;,"4"

Kanal E:
Prov-ID;,"5"
Reagensets kitnummer;,"9900801"
Reagensens lotnummer;,"0133203571"
Reagensets utgångsdatum;,"1209"
Analyskit-ID;,"5"
Anmärkning;,"5"

Kanal F:
Prov-ID;,"6"
Reagensets kitnummer;,"9900801"
Reagensens lotnummer;,"0133203571"
Reagensets utgångsdatum;,"1209"
Analyskit-ID;,"6"
Anmärkning;,"6"

[Kontrollsumma A0C47444]

Beställningsinformation

Produkt	Innehåll	Kat.nr.
EZ1 DSP DNA-blodsats (48)	För 48 prepareringar: Förfyllda reagenskassetter, engångspetshållare, engångsfilterspetsar, provrör, elueringsrör	62124
EZ1 Advanced XL DSP DNA-blodkort	Förprogrammerat kort för EZ1 DSP DNA blodprotokoll, för användning med EZ1 Advanced XL arbetsstation	9018702
EZ1 Advanced DSP DNA-blodkort	Förprogrammerat kort för EZ1 DSP DNA blodprotokoll, för användning med EZ1 Advanced arbetsstation	9018305
EZ1 DSP DNA-blodkort	Förprogrammerat kort för EZ1 DSP DNA blodprotokoll, för användning med BioRobot EZ1 DSP arbetsstation	9017713
EZ1 Advanced XL	Robotstation för automatisk rening av nukleinsyror från upp till 14 prover med EZ1-kits, 1-års garanti på delar och arbete*	9001492

Besök www.qiagen.com/products/assays för att få reda på mer om analystekniker från QIAGEN!

För aktuell licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler, se respektive QIAGEN-kit-handbok eller –användarmanual. QIAGEN-kit-handböcker och –användarmanualer finns tillgängliga på www.qiagen.com eller kan begäras från QIAGEN Teknisk Service eller från din lokala distributör.

Denna sida har avsiktligen lämnats tom

Denna sida har avsiktligen lämnats tom

Varumärken: QIAGEN®, artus®, BioRobot®, EZ1®, QuantiTect® (QIAGEN Group); BD Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); LightCycler® (Roche Group); Monovette® (Sarstedt AG & Co.); Vacuette® (C.A. Greiner & Söhne GmbH).

Begränsat licensavtal

Användning av denna produkt innebär att köparen eller användaren av EZ1 DSP DNA-blodsats godkänner följande villkor:

1. EZ1 DSP DNA-blodkit får endast användas i enlighet med handboken för *EZ1 DSP DNA blodkit* och endast med komponenter som finns i satsen. QIAGEN ger ingen licens för någon av sina immateriella tillgångar för att använda eller inkludera komponenterna i detta kit med komponenter som inte är inkluderade i detta kit förutom det som beskrivs i handboken för *EZ1 DSP DNA blodkit* och ytterligare protokoll som finns på www.qiagen.com.
2. Förutom de uttryckligen angivna licenserna kan QIAGEN inte garantera att denna sats och/eller dess användning inte kränker oberoende tredje parts rättigheter.
3. Denna sats och dess komponenter är licensierade för engångsbruk och får inte återanvändas, renoveras eller säljas vidare.
4. QIAGEN avsäger sig specifikt alla andra licenser, uttryckliga eller underförstådda, förutom de uttryckligen angivna.
5. Köparen och användaren av satsen åtar sig att inte tillåta någon annan att utföra något som kan leda till eller orsaka otillåtna situationer som beskrivs ovan. QIAGEN kan kräva upphävande av detta begränsade licensavtal i domstol, och skall ersättas för alla undersöknings- och rättegångskostnader, inklusive advokatkostnader, vid eventuellt försök att upprätthålla detta begränsade licensavtal eller någon av sina immateriella rättigheter avseende satsen och/eller någon av dess komponenter.

För uppdaterade licensvillkor, se www.qiagen.com.

QuantiTect Probe PCR Kit: FÖR KÖPARENS KÄNNEDOM: BEGRÄNSAD LICENS

En licens för att genomföra 5'-nukleasprocessen för forskning kräver användning av ett licensierat 5'-Nukleaskit (innehållande licensierad probe) eller kombinationen mellan ett auktoriserat Nukleas Core Kit och licensierad probe, eller licensrättigheter som kan köpas från Applied Biosystems. Denna produkt är ett auktoriserat 5'-nukleas Core Kit utan licensierad probe. Dess inköpspris inkluderar en begränsad, icke-transfererbar immunitet mot stämning under Amerikanska patentnr. 5,210,015, 5,487,972, 5,476,774, och 5,219,727, och motsvarande patentkrav utanför USA, ägda av Roche Molecular Systems, Inc. eller F. Hoffmann-La Roche Ltd (Roche), för användning av endast denna mängd av produkten vid tillämpning av 5'-nukleasprocessen enbart för köparens egen interna forskning när den används i samband med licensierad probe. Den här produkten är och ett auktoriserat Nukleas Core Kit att användas med serviceunderlicenser tillgängliga från Applied Biosystems. Den här produkten ger inga rättigheter under Amerikanska patentnr. 5,804,375, 6,214,979, 5,538,848, 5,723,591, 5,876,930, 6,030,787, eller 6,258,569, eller motsvarande patent utanför USA, uttryckligen, genom konsekvens eller genom hindrande. Inga rättigheter under några andra patentkrav (som exempelvis krav på apparater eller system i U.S.-patent nr. 6,814,934) och inga rättigheter att utgöra kommersiella tjänster av något slag, inklusive att utan begränsningar rapportera resultaten av köparens aktiviteter mot en avgift eller andra kommersiella avseenden, ges härmed uttryckligen, genom konsekvens eller genom hindrande. Det här instrumentet är endast avsett att användas för forskningsändamål. Diagnostisk användning kräver en separat licens från Roche. Ytterligare information om inköp av licenser kan fås genom att kontakta Director of Licensing, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA.

HB-0252-003 © 2009-2015 QIAGEN, med ensamrätt.

www.qiagen.com

Australia ■ Orders 03-9840-9800 ■ Fax 03-9840-9888 ■ Technical 1-800-243-066

Austria ■ Orders 0800/28-10-10 ■ Fax 0800/28-10-19 ■ Technical 0800/28-10-11

Belgium ■ Orders 0800-79612 ■ Fax 0800-79611 ■ Technical 0800-79556

Brazil ■ Orders 0800-557779 ■ Fax 55-11-5079-4001 ■ Technical 0800-557779

Canada ■ Orders 800-572-9613 ■ Fax 800-713-5951 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

China ■ Orders 021-3865-3865 ■ Fax 021-3865-3965 ■ Technical 800-988-0325

Denmark ■ Orders 80-885945 ■ Fax 80-885944 ■ Technical 80-885942

Finland ■ Orders 0800-914416 ■ Fax 0800-914415 ■ Technical 0800-914413

France ■ Orders 01-60-920-926 ■ Fax 01-60-920-925 ■ Technical 01-60-920-930 ■ Offers 01-60-920-928

Germany ■ Orders 02103-29-12000 ■ Fax 02103-29-22000 ■ Technical 02103-29-12400

Hong Kong ■ Orders 800 933 965 ■ Fax 800 930 439 ■ Technical 800 930 425

Ireland ■ Orders 1800 555 049 ■ Fax 1800 555 048 ■ Technical 1800 555 061

Italy ■ Orders 02-33430-420 ■ Fax 02-33430-426 ■ Technical 800-787980

Japan ■ Telephone 03-6890-7300 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Technical 03-6890-7300

Korea (South) ■ Orders 1544 7145 ■ Fax 1544 7146 ■ Technical 1544 7145

Luxembourg ■ Orders 8002-2076 ■ Fax 8002-2073 ■ Technical 8002-2067

Mexico ■ Orders 01-800-7742-639 ■ Fax 01-800-1122-330 ■ Technical 01-800-7742-639

The Netherlands ■ Orders 0800-0229592 ■ Fax 0800-0229593 ■ Technical 0800-0229602

Norway ■ Orders 800-18859 ■ Fax 800-18817 ■ Technical 800-18712

Singapore ■ Orders 65-67775366 ■ Fax 65-67785177 ■ Technical 65-67775366

Spain ■ Orders 91-630-7050 ■ Fax 91-630-5145 ■ Technical 91-630-7050

Sweden ■ Orders 020-790282 ■ Fax 020-790582 ■ Technical 020-798328

Switzerland ■ Orders 055-254-22-11 ■ Fax 055-254-22-13 ■ Technical 055-254-22-12

UK ■ Orders 01293-422-911 ■ Fax 01293-422-922 ■ Technical 01293-422-999

USA ■ Orders 800-426-8157 ■ Fax 800-718-2056 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

