



Juli 2024

Produktblad

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

Version 1

**IVD**

För in vitro-diagnostisk användning

För laboratoriebruk



**REF**

260101, 260102



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

R1

**MAT**

1134829SV

Sample to Insight

# Innehållsförteckning

Kitinnehåll .....	3
Transport och förvaring .....	4
Användningsstabilitet .....	4
Avsedd användning .....	5
Aktiva innehållsämnena .....	5
Symboler .....	6
Säkerhetsinformation .....	8
Universal MasterMix .....	9
Vid nödsituationer .....	9
Beskrivning och princip .....	10
Anteckningar innan du börjar .....	11
Procedur .....	13
Bortskaffning .....	17
Kvalitetskontroll .....	18
Begränsningar .....	19
Felsökning .....	20
Beställningsinformation .....	23
Dokumentrevisjoner .....	24

# Kitinnehåll

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

# Transport och förvaring

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit levereras på torris. Ska vid mottagandet omedelbart förvaras i -30 till -15 °C i en frys med konstant temperatur. Om någon komponent i QIAcuityDx Universal MasterMix Kit inte är fryst vid ankomst, om den yttre förpackningen har öppnats under transporten eller om det saknas en bipacksedel eller reagenser i leveransen ska du kontakta QIAGENs tekniska service eller lokala distributörer (se [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

När QIAcuityDx Universal MasterMix Kit förvaras på rätt sätt är det stabilt fram till det utgångsdatum som är tryckt på etiketten.

Använd inte om den förvarats utanför specifikationerna, om förpackningen har skadats eller om det finns andra synliga tecken på försämring eller funktionsfel.

## Användningsstabilitet

När reagenser har öppnats kan de förvaras i originalförpackningen vid -30 till -15 °C fram till angivet utgångsdatum. Undvik att tina och frysa upprepade gånger. Överskrid inte maximalt fem frys-/upptiningscykler.

Reagenserna måste tinas helt i rumstemperatur (15–25 °C) i högst 30 minuter före användning.

# Avsedd användning

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit är ett färdigt att använda generellt dPCR-mastermix-reagensset för användning med QIAcuityDx Four-instrumentet i kombination med tillhörande analys-specifika reagenser som en del av validerade diagnostiska testprocedurer.

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit är inte en automatiserad enhet och är avsedd för laboratorieanvändning av utbildad personal.

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit är avsett för *in vitro*-diagnostisk användning.













Det är användarnas ansvar att validera systemets prestanda för eventuella procedurer som används i deras laboratorium som inte ingår i QIAGEN:s prestandastudier.

## Aktiva innehållsämnen

Reagens	Namn	Aktivt innehållsämne	Koncentration (% vikt/vikt)
Huvudmix	QIAcuityDx Universal MasterMix	QuantiNova® DNA-polymeras (5,6 U/ $\mu$ l)	12 %
		dNTP Mix (10 mM vardera)	10 %
Magnesiumklorid	MgCl <sub>2</sub> , 200 mM	Ingen	–
Vatten	RNase-free water (RNase-fritt vatten)	Ingen	–

# Symboler

Följande symboler kan finnas i bruksanvisningen eller på förpackningar och etiketter:

	Denna produkt uppfyller kraven i den europeiska förordningen (EU) 2017/746 om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik (IVDR).
	Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik
	Katalognummer
	Materialnummer
	Lotnummer
	GTIN-artikelnummer (Global Trade Item Number)
	Unik enhetsidentifierare
	Innehåller
	Komponent
	Antal
	Tillverkningsdatum
<b>Rn</b>	R står för revidering av produktbladet och n är revisionsnumret
<b>Vn</b>	V står för version av produktbladet och n är versionsnumret
	Utgångsdatum



Temperaturbegränsningar



Laglig tillverkare



Se bruksanvisningen



<N>

Innehåller reagens som räcker till <N> reaktioner



Skyddas mot ljus



Varning



Hälsorisk

# Säkerhetsinformation

Använd alltid laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Mer information finns i tillämpliga säkerhetsdatablad (Safety Data Sheet, SDS). Dessa finns tillgängliga online i bekvämt och kompakt PDF-format på [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) där du kan hitta, visa och skriva ut säkerhetsdatablad för varje QIAGEN®-kit och -kitkomponent.

Var medveten om att du kan behöva konsultera lokala regelverk för rapportering av allvarliga incidenter som inträffat i samband med enheten till tillverkaren och den tillsynsmyndighet där användaren och/eller patienten befinner sig.

Prover är potentiellt smittsamma. Kassera prov- och analysavfall i enlighet med lokala säkerhetsprocedurer.

QIAcuityDx Universal MasterMix-kit innehåller QuantiNova DNA-polymeras, som produceras genom en process av bakteriell fermentering. Enzymet renas från mikroberna i slutet av bearbetningen för att avlägsna eventuella kvarvarande källor till potentiellt smittsamt material.



## Universal MasterMix



Innehåller: 2-metylisotiazol-3(2H)-one; 1,2,4-triazol. Kan orsaka allergisk hudreaktion. Kan skada fertiliteten eller det ofödda barnet. Inhämta särskilda instruktioner före användning. Hantera inte förrän alla säkerhetsföreskrifter har lästs och förstås. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. Vid exponering eller misstanke om exponering: Sök läkarhjälp. Förvaras inlåst. Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning.

---

## Vid nödsituationer

CHEMTREC

USA och Kanada: 1-800-424-9300

Utanför USA och Canada: +1703-527-3887

# Beskrivning och princip

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit består av en färdig att använda dPCR-mastermix som innehåller reaktionskemi i PCR-buffert och patentskyddat referensfärgämne, och separata rör med 200 mM magnesiumklorid ( $\text{MgCl}_2$ ) 100 % w/w och RNase-fritt vatten 100 % w/w.

En fullständig lista över material som ska användas med QIAcuityDx Universal MasterMix Kit finns i *QIAcuityDx-systemets användarhandbok*.

Detta protokoll är optimerat för kvantifiering av DNA- eller cDNA-mål med QIAcuityDx Universal MasterMix Kit med TaqMan<sup>®</sup>-sonder i en singleplex- eller multiplexreaktion med QIAcuityDx-systemet.

# Anteckningar innan du börjar

- Ett fluorescerande färgämne tillhandahålls som en komponent i QIAcuityDx Universal MasterMix Kit för tillförlitlig detektering av korrekt partitionsfyllning i QIAcuityDx-kompatibla nanoplattor.
- För högsta effektivitet av dPCR-analys med TaqMan-sökfragment bör amplikoner helst vara 60–150 bp långa. I likhet med qPCR kan längre amplikoner också användas, men analysprestanda kan försämrats.
- Innan du utför multiplexanalyser, välj lämpliga kombinationer av reporterfärger och quenchers som är kompatibla med multiplexanalyser med hjälp av detektionsoptiken hos QIAcuityDx Four-instrumentet (se tabell 1).

**Viktigt:** En integrerad överhörningskorrigerings tillämpas på bilder som genereras av QIAcuityDx Four-instrumentet. Denna korrigerings är till för att minimera effekterna av spektral överlappning mellan närliggande optiska kanaler och fluoroforer. Användning av färgämnen som inte stöds kan resultera i suboptimal överhörningskorrigerings.

**Tabell 1. Optiska kanaler och fluoroforer som stöds för QIAcuityDx Four-instrumentet**

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

- Icke-fluorescerande quenchers bör användas med varje sökfragment. Dubbelsläckta quenchede sökfragment kan användas för att förbättra signal-till-brus-förhållanden i vissa analyser.

- Det rekommenderas att påbörja analysutvecklingen med de cykelförhållanden och primerkoncentrationer som anges i detta protokoll. PCR-cykelförhållandena måste börja med ett initialt inkubationssteg på 2 minuter vid 95 °C för att aktivera QuantiNova DNA-polymeras i QIAcuityDx Universal MasterMix Kit.
- För enkel användning rekommenderar vi att du förbereder en 10x eller högre koncentration av primer-sökfragmentblandning som innehåller målspecifika primers och sökfragment för vart och ett av dina mål. En 10x primer-sökfragmentblandning består av 1–8 µM framåtriktad primer, 1–8 µM omvänd primer och 0,5–4 µM sökfragment i TE-buffert med låg EDTA (0,1 mM).
- DNA-mall med en medellängd på >30 kb kan behöva fragmenteras genom restriktionsuppslutning innan uppdelning. Enzymatisk fragmentering av större DNA säkerställer jämn fördelning av mallen genom den QIAcuityDx-kompatibla nanoplattan, vilket i sin tur säkerställer korrekt och exakt kvantifiering. Restriktionsklyvning krävs inte för mycket fragmenterat DNA (t.ex. FFPE-DNA eller cirkulerande DNA) eller cDNA. Försiktighet bör iaktas för att använda enzymer som inte skärs inom den amplifierade sekvensen, därför rekommenderas restriktionsenzymer.
- Provinmatningsmängder bör baseras på nanoplattpartitionsnumren, med en övre gräns på 5 kopior per partition när TaqMan-sökfragment baserad detektering används (tabell 2). Det ideala intervallet för kopior/partitioner är mellan 0,5–3. Om kopians antal inte kan fastställas innan experimentet startar, rekommenderas det att utföra ett initialt titreringsexperiment för att bestämma den optimala mängden provinmatning.

**Tabell 2. Maximalt antal kopior per reaktion per plattyp**

Plattyp	Antal partitioner	Övre gräns för kopior per reaktion	Analyserad volym (µl)	Total reaktionsvolym (µl)	Max. antal kopior per analyserad volym	Uppskattat max. kopior per reaktion
8,5k nanoplatter	8.500	5	2,9	13	42.500	170.000
26k nanoplatter	26.000	5	24,0	42	130.000	217.000

# Procedur

1. Tina QIAcuityDx Universal MasterMix, magnesiumklorid, mall-DNA eller cDNA, primersökfragmentblandning och RNase-fritt vatten i rumstemperatur i maximalt 30 minuter.
2. Blanda var och en av lösningarna genom att vortexa med full hastighet i 3–5 sekunder. Rören ska centrifugeras kort efter blandning för att samla upp vätskorna i botten av rören.
3. Förbered en analysmastermix för antalet reaktioner som behövs enligt tabell 3, minus mallen/ingen mallkontroll (NTC). Det är inte nödvändigt att hålla prover på is under reaktionsinställningen eller efterföljande steg.

**Tabell 3. Rekommenderad uppsättning av analysmastermix**

Komponent	Volym/brunn (24/96-brunnar, 8,5 k nanoplattor)	Volym/brunn (24-brunnars, 26 k nanoplattor)	Slutlig koncentration
QIAcuityDx Universal MasterMix (Masterblandning)	3,3 µl	11 µl	1x
MgCl <sub>2</sub> , 200 mM	0,41 µl*	1,38 µl*	6,28 mM*
10x primer- sökfragmentblandning (per analys)†	1,32 µl†	4,4 µl†	0,1–0,8 µM framåtriktad primer 0,1–0,8 µM omvänd primer 0,05–0,4 µM sökfragment
Restriktionsenzym (tillval)	Upp till 1 µl	Upp till 1 µl	0,025–0,25 U/µl
RNase-free water (RNase- fritt vatten)	Variable (Varierande)	Variable (Varierande)	
Mall-DNA eller cDNA (läggs till i steg 5)	Variable (Varierande)‡	Variable (Varierande)‡	
<b>Totalt</b>	<b>13,2 µl</b>	<b>44 µl</b>	

\*Rekommenderad startkoncentration, volymen kan variera beroende på optimering.

†Volymen kan variera beroende på koncentrationen av den använda primer-sökfragmentblandningen och den slutliga mälkoncentrationen.

‡Lämpliga mallmängder beror på olika parametrar, se anteckningar innan du startar.

- Blanda mastermixen genom att vortexa på full hastighet i 3–5 sekunder. Centrifugera kort.
- Dispensera lämpliga volymer av analysmastermixen, som innehåller alla komponenter utom mallen/ingen mallkontroll (NTC) i brunnarna på en standard PCR-platta eller lo-bind-rör. Lägg sedan till mall-DNA/NTC i varje brunn/rör i den volym som är lämplig för din analys (se Anteckningar innan start).

**Obs!** För 2-stegs RT-PCR bör volymen tillsatt cDNA (från den utspädda omvänd transkriptionsreaktionen) inte överstiga 15 % av den slutliga PCR-volymen.

6. Blanda underblandningen (analysmastermix och mall) antingen i en PCR-platta genom att pipettera upp och ner 10 gånger i brunnen, eller om den blandas i ett rör, genom att vortexa med full hastighet i 3–5 sekunder. Centrifugera plattan/röret kort för att samla upp vätskan i botten av brunnen/röret.
7. Överför innehållet i varje brunn/rör omedelbart till brunnarna på nanoplattan.
 

**Obs!** Se till att inga luftbubblor skapas under överföringen till nanoplattan genom att pipettera till det första stoppet. Se till att pipettera blandningen i inmatningsbrunnen och inte utmatningsbrunnen. För att undvika att skada den optiska ytan och för att minska damm som kommer att störa avbildningen och analysen av resultaten, rekommenderar vi att du placerar nanoplattan i ett nanoplatträåg innan du pipetterar reaktionsblandningen i nanoplattan. Nanoplatträaget ska förensöras med en luddfri trasa före användning.
8. Försegla nanoplattorna ordentligt med nanoplattförseglingen som finns i plattsatserna.
 

**Obs!** För exakt förseglingsprocedur, se *bruksanvisningen för QIAcuityDx System*.
9. Om ett restriktionsenzym för DNA-spjälkning har inkluderats i reaktionen, lämna plattan i 10 minuter i rumstemperatur.
10. Programmera cyklern för QIAcuityDx Four-instrumentet enligt tabell 4.

**Tabell 4. Rekommenderade dPCR-cykelförhållanden**

Steg	Tid	Temperatur (°C)	Antal cykler
PCR initial värmeaktivering	2 min	95	1
Hybridisering	15 s	95	40*
Kombinerad hybridisering/förlängning*	30 s*	60	

\*Temperatur/tid/antal cykler kan variera beroende på analystyp

11. Placera nanoplattan i QIAcuityDx Four-instrumentet och starta dPCR-programmet enligt bruksanvisningen för QIAcuityDx System.



# Bortskaffning

Kassera använd och oanvänd produkt i enlighet med lokala och nationella bestämmelser. Följ rekommendationerna i säkerhetsdatabladet (Safety Data Sheet, SDS).

# Kvalitetskontroll

För att säkerställa en enhetlig produktkvalitet testas varje lot QIAcuityDx Universal MasterMix Kit med fastlagda testkriterier enligt QIAGEN:s ISO-certifierade kvalitetshanteringssystem.

# Begränsningar

QIAcuityDx Universal MasterMix Kits prestanda har fastställts med tillämpliga nedströms QIAGEN-analyser. Se respektive bruksanvisningar för respektive QIAGEN-nedströmsapplikation för detaljerade anvisningar om hur du hanterar den här produkten inom motsvarande arbetsflöde.

Det är användarens ansvar att validera egenskaperna för alla de analyser som används i laboratoriet som inte ingår i QIAGEN:s prestandastudier. För att minimera risken för negativ påverkan på de diagnostiska resultaten, bör lämpliga kontroller för nedströms tillämpningar användas. För ytterligare validering rekommenderas riktlinjen från *International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) i ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology*.

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit tillverkas inte under sterila tillverkningsprocedurer, därför kan den innehålla andra ingredienser som kan påverka mätningen. Nedströms tillämpningar bör innehålla adekvata kontroller om detta ökar risken för en negativ inverkan på det diagnostiska resultatet.

# Felsökning

Det här avsnittet ger information om vad du ska göra i händelse av problem med användningen av QIAcuityDx Universal MasterMix Kit. Om ytterligare hjälp behövs ska du kontakta QIAGEN teknisk support via kontaktuppgifterna nedan:

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

Problem	Kommentarer och förslag
<b>NTC-amplifiering</b>	
Analysdesign	Designa om primers/sökfragment. Optimera analysförhållandena genom att variera koncentration av primersökfragment och MgCl <sub>2</sub> -koncentration.
Kontaminering i reagenser	Kassera reagenser, upprepa analysen med nya reagenser.
Kontaminering i analysuppsättning.	Vidta försiktighetsåtgärder mot kontaminering genom att dekontaminera arbetsområdet med lämpliga rengöringsmaterial.
<b>Ingen amplifiering</b>	
PCR-förhållandena inte optimerade	Öka den initiala denatureringstiden. Öka hybridiserings-/förlängningstiden.
Otillräcklig startmall	Öka mängden/koncentrationen av startmallen som läggs till analysens mastermix.
<b>Mättnadsflagga</b>	
Övermättnad av sökfragment	Minska exponeringstiden i avbildningsparametrarna. Minska förstärkningen i avbildningsparametrarna.
<b>Otillräcklig separation mellan positiva och negativa kluster</b>	
Analysdesign	Optimera analysförhållandena genom att variera koncentration av primersökfragment och MgCl <sub>2</sub> -koncentration. Byt till dubbla släckta TaqMan-sökfragment för att öka signal-brusförhållandet.
PCR-förhållandena inte optimerade	Öka den initiala denatureringstiden. Öka hybridiserings-/förlängningstiden.
<b>Skilnader observerade i absoluta kvantifieringsvärden mellan körningar</b>	
Otillräckligt tillägg av QIAcuityDx Universal MasterMix	Se till att den slutliga koncentrationen av QIAcuityDx Universal MasterMix i underblandningen är 1x (från 4x stamlösningen).
Variation i upptagnings-/inställningstid	Förlängda upptagnings-/inställningstider kan påverka absoluta kvantifieringsvärden negativt. För optimal prestanda bör reagenser tinas i högst 30 minuter och när underblandningen (analysmastermix + mall) är framställd ska den omedelbart laddas på nanoplattan. Om förlängda upptagnings-/inställningstider är nödvändiga, bör dessa skyddas per analys för att säkerställa att eventuella förändringar i absolut kvantifiering inte påverkar slutresultaten.

## Problem

## Kommentarer och förslag

---

PCR-förhållandena inte optimerade

Optimera denatureringstemperaturen.

Optimera hybridiserings-/förlängningstemperaturen.

### **Inkonsekventa resultat mellan brunnar på nanoplattform**

PCR-förhållandena inte optimerade

Optimera aktiveringstiden genom att öka från 2 minuter upp till 15 minuter.

# Beställningsinformation

Produkt	Innehåll	Kat.nr
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (1 mL)	För beredning av upp till fyra QIAcuityDx-nanoplattor: 1 x QIAcuityDx Universal MasterMix, 1 x MgCl <sub>2</sub> , 200 mM, 2 x RNAs-free water (RNase-fritt vatten)	260101
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (5 mL)	För beredning av upp till tjugo QIAcuityDx-nanoplattor: 5 x QIAcuityDx Universal MasterMix, 2 x MgCl <sub>2</sub> , 200 mM, 5 x RNAs-free water (RNase-fritt vatten)	260102

Var noggrann och uppmärksam vid hantering av produkterna. Vi rekommenderar alla användare av QIAGEN®-produkter att följa alla tillämpliga lokala föreskrifter och vi rekommenderar även att följa tillämpliga standarder och riktlinjer.

# Dokumentrevisioner

Datum	Ändringar
R1 juli 2024	Startversion

## Begränsat licensavtal för QIAcuityDx® Universal MasterMix Kit

Användning av denna produkt innebär att köparen eller användaren av produkten godkänner följande villkor:

1. Produkten får endast användas i enlighet med de protokoll som medföljer produkten och den här bruksanvisningen och får endast användas med komponenterna som ingår i panelen. QIAGEN ger ingen licens för någon av sina immateriella tillgångar för att använda eller inkludera komponenterna i denna panel med komponenter som inte ingår i denna panel förutom vad som beskrivs i de protokoll som medföljer produkten, den här bruksanvisningen och ytterligare protokoll som finns på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). En del av dessa ytterligare protokoll har tillhandahållits av QIAGEN-användare åt QIAGEN-användare. De här protokollen har inte testats noggrant eller optimerats av QIAGEN. QIAGEN garanterar inte att de inte kränker tredje parts rättigheter.
2. Förutom de uttryckligen angivna licenserna kan QIAGEN inte garantera att denna panel och/eller dess användning inte kränker tredje parts rättigheter.
3. Panelen och dess komponenter är licensierade för engångsbruk och får inte återanvändas, förbättras eller säljas vidare.
4. QIAGEN avsäger sig specifikt ansvar för alla andra licenser, uttryckliga eller underförstådda, förutom de som uttryckligen angivits.
5. Köparen och användaren av panelen godkänner att inte tillåta någon annan att utföra något som kan leda till eller orsaka otillåtna situationer beskrivna ovan. QIAGEN kan kräva att detta avtal om begränsad licens upprätthålls i domstol, och ska ersättas för alla undersöknings- och rättegångskostnader, inklusive advokatkostnader, som uppstår vid försök att bestrida detta avtal om begränsad licens eller någon av de immateriella rättigheter som avser panelen och/eller någon av dess komponenter.

För uppdaterade licensvillkor, se [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAcuityDx®, QuantiNova® (QIAGEN Group); Cy® (GE Healthcare); Taqman® (Roche Molecular Systems, Inc.); FAM™, HEX™, ROXTM, TAMRATM, (Thermo Fisher Scientific eller dess dotterbolag). Registrerade namn, varumärken m.m. som används i detta dokument, även om de inte specifikt är markerade som sådana, ska inte anses vara oskyddade enligt lag.

07/2024 HB-3592-001 © 2024 QIAGEN, med ensamrätt.



Den här sidan har avsiktligt lämnats tom.

Den här sidan har avsiktligt lämnats tom.

Den här sidan har avsiktligt lämnats tom.

