



2024 年 7 月

產品說明書

QIAcuityDx[®] Universal MasterMix Kit

版本 1

IVD

適用於體外診斷

供實驗室使用



REF

260101, 260102



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 德國

R1

MAT

1134829ZHTW

目錄

試劑組內容物.....	3
運輸和存放.....	4
使用中穩定性.....	4
適用範圍.....	5
活性成分.....	5
符號.....	6
安全資訊.....	8
Universal MasterMix	9
緊急資訊.....	9
說明及原理.....	10
開始前的備註.....	11
程序.....	13
處置.....	17
品質管制.....	18
限制.....	19
疑難排解.....	20
訂購資訊.....	22
文件修訂歷程記錄.....	23

試劑組內容物

產品編號 試劑盒	260101 1 mL	260102 5 mL
QIAcuityDx Universal MasterMix	1 x 1180 µL	5 x 1180 µL
MgCl ₂ , 200mM	1 x 1000 µL	2 x 1000 µL
RNase-Free Water (無核糖核酸酶水)	2 x 1.9 mL	5 x 1.9 mL

運輸和存放

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit 用乾冰運輸。其應在收到後立即置於恆溫冰箱中以 -30 至 -15°C 的溫度存放。如果 QIAcuityDx Universal MasterMix Kit 的任何組分到達時未處於冷凍狀態、在運輸過程中外包裝已開啟，或貨物中缺少裝箱單或試劑，請聯絡 QIAGEN 技術服務部或當地經銷商（瀏覽 www.qiagen.com）。

在正確儲存條件下，QIAcuityDx Universal MasterMix Kit 可保持穩定，直到標籤上列印的保存期限。

如超出規格存放、包裝受損或出現其他退化或故障跡象，則請勿使用。

使用中穩定性

打開後，試劑可使用其原始包裝儲存在 -30 至 -15°C 環境中，直至包裝上規定的過期日。應避免反復冷凍解凍。請勿超過最多 5 次冷凍解凍循環。

使用前，試劑必須在室溫 (15 — 25°C) 下完全解凍，最多 30 分鐘。

適用範圍

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit 是一種即用式的通用 dPCR 主混合液試劑組，可與 QIAcuITYDX Four 儀器搭配相關的檢測特定試劑使用，作為驗證診斷測試程序的一部分。

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit 不是自動化裝置，僅供訓練有素的人員在實驗室使用。

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit 專用於體外診斷。

使用者實驗室中超出 QIAGEN 效能研究範圍的任何程序，應自行負責進行系統效能驗證。

活性成分

試劑	名稱	活性成分	濃度 (% w/w)
主混合液	QIAcuityDx Universal MasterMix	QuantiNova® DNA 聚合酶 (5.6 U/μl)	12%
		dNTP 混合物 (各 10 mM)	10%
氯化鎂	MgCl ₂ , 200mM	無	-
水	RNase-Free Water (無核糖核酸酶水)	無	-

符號

使用說明或包裝及標籤上，可能會出現以下符號：

	本產品符合歐洲法規 (EU) 2017/746 對體外診斷醫療器材 (IVDR) 的要求。
	體外診斷醫療器材
	產品編號
	材料編號
	批號
	全球交易品項識別代碼
	醫療器材單一識別碼
	內含物
	元件
	數量
	製造日期
	R 表示產品說明書修訂，n 表示修訂編號
	V 表示產品說明書版本，n 表示版本號
	有效期



溫度限制



合法製造廠



參閱使用說明



含有足夠進行 $\langle N \rangle$ 次反應的試劑



避光



警告



健康危險

安全資訊

在操作化學物質時，務必穿戴合適的實驗室工作服、拋棄式手套和護目鏡。如需了解更多資訊，請參閱相應的安全資料表 (Safety Data Sheets, SDS)。這些安全資料表以簡潔方便的 PDF 格式在線上提供：www.qiagen.com/safety，對於每種 QIAGEN® 試劑組和每種試劑組成分，您可以從中找到、瀏覽並列印 SDS。

請注意，您可能需要參考當地規定，向製造商和主管機關通報涉及使用者及/或患者的器材相關嚴重事件。

試樣和樣本具有潛在的感染性。根據當地安全程序丟棄樣本和檢測廢棄物。

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit 包含透過細菌發酵過程產生的 QuantiNova DNA 聚合酶。在處理結束時，酵素會從微生物中淨化，以去除任何潛在傳染性物質的殘留來源。

Universal MasterMix



含有：2-甲基異噻唑-3(2H)-酮；1,2,4-三唑。可能造成過敏性皮膚反應。可能傷害生育力或胎兒。使用之前請取得特殊指示。在閱讀並理解所有安全注意事項之前，請勿處理。使用防護手套/防護衣/護目鏡/面部護具。如果暴露或擔憂可能暴露：請尋求醫療建議/就醫。上鎖存放。將其中內容物/容器交給核准的廢棄物處理廠處理。

緊急資訊

CHEMTREC

美國和加拿大：1-800-424-9300

美國和加拿大以外地區：+1 703-527-3887

說明及原理

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit 包含即用式 dPCR 主混合液，其中含有 PCR 緩衝液中的反應化學成分和專有基準染料，以及分裝的 200mM 氯化鎂 (MgCl₂) [100% w/w] 和無核糖核酸酶水 [100% w/w]。

可以在 *QIAcuITYDX 系統使用者手冊* 中找到與 QIAcuityDx Universal MasterMix Kit 一起使用的材料的完整清單。

該操作程序針對使用 QIAcuityDx Universal MasterMix Kit 和 TaqMan® 探針在 QIAcuityDx 系統的單重或多重反應中進行 DNA 或 cDNA 目標定量而進行了優化。

開始前的備註

- 螢光染料是作為 QIAcuityDx Universal MasterMix Kit 的元件提供的，可以可靠地檢測 QIAcultyDX 相容納米板中的正確分區填充。
- 為了使用 TaqMan 探針進行最高效率的 dPCR 檢測，擴增子的理想長度應為 60 – 150 bp。與 qPCR 類似，也可以使用更長的擴增子，但是，檢測效能可能會受到損害。
- 在執行多重分析之前，使用 QIAcuityDx Four 儀器的檢測光學元件，選擇與多重分析相容的螢光報告基團染料和猝滅基團的合適組合（見表 1）。

重要提示：整合式串擾更正適用於 QIAcultyDX Four 儀器產生的影像。此更正旨在最大程度地減少鄰近光通道和螢光團之間光譜重疊的影響。使用不受支援的染料可能會導致串擾更正不處於最佳狀態。

表 1.用於 QIAcuityDx Four 儀器的光通道和支援的螢光團

通道	激發 (nm)	發射 (nm)	支援的螢光團
綠色	463 – 503	518 – 548	FAM™
黃色	514 – 535	550 – 564	HEX™
橙色	543 – 565	580 – 606	TAMRA™
紅色	570 – 596	611 – 653	ROX™
深紅色	590 – 640	654 – 692	Cy5®

- 每個探針應使用非螢光猝滅基團。雙淬滅探針可用於改善某些檢測的訊噪比。
- 建議在本操作程序中指定的循環條件和引子濃度開始檢測開發。PCR 循環條件開始時必須先在 95°C 下執行 2 分鐘的初始靜置步驟，以激活 QIAcuityDx Universal MasterMix Kit 中的 QuantiNova DNA Polymerase。

- 為了便於使用，我們建議準備 10 倍或更高濃度的引子-探針混合液，其中包含針對每個目標的目標特异性引子和探針。10 倍引子-探針混合液由 1 – 8 正向引子、1 – 8 反向引子和低 EDTA (0.1 mM) TE 緩衝液中的 0.5 – 4 μ M 探針組成。
- 平均長度 > 30kb 的 DNA 範本在分割前可能需要透過限制性酶切進行片段化。較大 DNA 的酶碎片可確保範本在 QIAcuityDx 相容納米板中均勻分佈，從而確保準確和精確的定量。高度片段化的 DNA（例如 FFPE DNA 或循環 DNA）或 cDNA 不需要限制性酶切。應小心使用不會在擴增序列中切割的酶，因此建議使用限制性內切酶。
- 樣本輸入量應基於納米板分區號，使用基於 TaqMan 探針的檢測時，每個分區的上限為 5 份（表 2）。理想的份數/分區範圍在 0.5 – 3 之間。如果在實驗開始前無法確定份數，建議進行初始滴定實驗以確定最佳樣本輸入量。

表 2. 每個反應板類型每次反應的最大份數

反應板類型	分區數	每次反應的份數上限	分析體積 (μ l)	總反應體積 (μ l)	每個分析體積的最大份數	每次反應的預估最大份數
8.5k 納米板	8500	5	2.9	13	42.500	170.000
26k 納米板	26.000	5	24.0	42	130.000	217.000

程序

1. 在室溫下解凍 QIAcuityDx Universal MasterMix、氯化鎂、模板 DNA 或 cDNA、引子-探針混合液和無核糖核酸酶水，最多 30 分鐘。
2. 透過全速振盪混合每種溶液，持續 3 - 5 秒。混合後應短暫離心試管，以收集試管底部的液體。
3. 根據表 3，減去模板/無模板對照組 (NTC)，製備所需反應次數的檢測主混合液。在反應設定或後續步驟時，不需要將樣本放在冰上。

表 3. 建議的檢測主混合液設定

組分	體積/孔 (24/96 孔, 8.5k 納米板)	體積/孔 (24 孔, 26k 納米板)	最終濃度
QIAcuityDx Universal MasterMix	3.3 μL	11 μL	1x
MgCl_2 , 200mM	0.41 μL^*	1.38 μL^*	6.28 mM*
10 倍引子探針混合液 (每次檢測) †	1.32 μL^\ddagger	4.4 μL^\ddagger	0.1 – 0.8 μM 正向引子 0.1 – 0.8 μM 反向引子 0.05 – 0.4 μM 探針
限制性內切酶 (選擇性)	最多 1 μL	最多 1 μL	0.025 – 0.25 U/ μL
RNase-Free Water (無核糖核酸酶水)	變數	變數	
模板 DNA 或 Cdna (在步驟 5 加入)	變數‡	變數‡	
總計	13.2 μL	44 μL	

* 建議的起始濃度，體積可能會因優化而有所不同。

† 體積可能會有所不同，具體取決於所使用引子探針混合液的濃度和最終目標濃度。

‡ 適當的模板量取決於各種參數，開始前請參閱備註。

4. 透過全速振盪混合主混合液，持續 3 – 5 秒。短暫離心。
5. 將適當量的檢測主混合液（其中包含模板/無模板對照組 (NTC) 以外的所有成分）分配到標準 PCR 板的孔或低附著試管中。然後，將模板 DNA/NTC 添加到每個孔/試管中，添加量應適合您的檢測（請參見開始前的備註）。

備註：對於 2 步 RT-PCR，所加入 cDNA（來自未稀釋反轉錄反應）的體積不應超過最終 PCR 體積的 15%。

- 透過在孔中上下移液 10 次，在 PCR 板中混合子混合液（檢測主混合液和模板），或者，如果在試管中混合，則全速振盪 3 – 5 秒。將板/試管短暫離心，以收集孔/試管底部的液體。
- 立即將每個孔/試管的內容物轉移到納米板的孔中。

備註：透過移液到第一站，確保在轉移到納米板期間不會產生氣泡。確保將混合液移液到輸入孔，而不是輸出孔。為避免損壞光學表面，並減少會干擾成像和結果分析的灰塵，我們建議將納米板放入納米板托盤中，然後再將反應混合液移液到納米板中。使用前，應先用無絨紙巾預先清潔納米板托盤。

- 使用板套件中提供的納米板密封件，妥善密封納米板。

備註：有關精確的密封程序，請參閱 *QIAcuITYDX 系統使用者手冊*。

- 如果反應中包含用於 DNA 消化的限制性內切酶，請在室溫下放置板 10 分鐘。
- 根據表 4 對 QIAcuityDx Four 儀器的分析儀進程式設計。

表 4.建議的 dPCR 循環反應條件

步驟	時間	溫度 (°C)	循環數
PCR 初始熱激活	2 分鐘	95	1
變性	15 秒	95	40*
組合結合/延伸*	30 秒*	60	

* 溫度/時間/循環數可能會因檢測類型而有所不同

11. 將納米板放入 QIAcuityDx Four 儀器中，然後根據 *QIAcuityDx 系統使用者手冊* 啟動 dPCR 程序。

處置

根據當地和國家法規處理已使用和未使用的產品。遵循安全資料表 (SDS) 中的建議。

品質管制

依照 QIAGEN 的 ISO 認證品質管制系統，每批 QIAcuityDx Universal MasterMix Kit 已針對預定品質標準進行了檢測，以確保產品品質一致。

限制

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit 的效能已透過適用的下游 QIAGEN 檢測得到了確定。請參閱相應 QIAGEN 下游應用程式的相應使用說明，以獲取有關在相應的工作流程中處理本產品的詳細說明。

使用者實驗室中超出 QIAGEN 效能研究範圍的檢測，應自行負責進行檢測效能驗證。為了將對於診斷結果的負面影響風險最小化，應該對下游應用進行足夠的控制。為了進一步驗證，建議遵循國際醫藥法規協會技術要求 (ICH) 的《ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Test and Methodology》(ICH Q2 (R1) 分析程序驗證：檢測與方法) 中所列的準則。

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit 並非根據無菌製造程序生產，因此其中可能含有其他可能影響測量的成分。如果這會新增對診斷結果產生負面影響的風險，下游應用程式應包含足夠的控制措施。

疑難排解

本節提供有關在使用 QIAcuityDx Universal MasterMix Kit 過程中出現問題時應採取何種措施的資訊。如果需要進一步協助，請使用下面的聯絡資訊聯絡 QIAGEN 技術服務部，這將指引您前往特定國家的詳細聯絡資訊：

網站：support.qiagen.com

問題

註解與建議

NTC 擴增

檢測設計	重新設計引子/探針。 透過變更引子探針濃度和 $MgCl_2$ 濃度來優化檢測條件。
試劑中的污染	丟棄試劑，使用新試劑重複檢測。
檢測設定中的污染	使用適當的清潔材料清潔工作區域，採取措施預防污染。

無擴增

PCR 條件未優化	增加初始變性時間。 增加黏合/延伸時間。
起始範本不足	增加新增到檢測主混合液中的起始範本的量/濃度。

飽和度標誌

探針過度飽和	縮短成像參數中的曝光時間。 降低成像參數中的增益。
--------	------------------------------

陽性和陰性集群之間的分離不足

檢測設計	透過變更引子探針濃度和 $MgCl_2$ 濃度來優化檢測條件。 切換至雙淬滅 TaqMan 探針以增加訊噪比。
PCR 條件未優化	增加初始變性時間。 增加黏合/延伸時間。

在運行之間觀察到絕對定量值的差異

加入的 QIAcuityDx Universal MasterMix 不足	確保子混合液中 QIAcuityDx Universal MasterMix 的最終濃度為 $1\times$ (來自 $4\times$ 原液)。
解凍/設定時間的變化	解凍/設定時間延長可能會對絕對定量值產生負面影響。為了獲得最佳效能，試劑應最多解凍 30 分鐘，並且，在製備子混合液 (檢測主混合液 + 模板) 後，應立即將其加入納米板上。如果需要延長解凍/設定時間，則應按檢測進行保護，以確保絕對定量中的任何變化不會影響最終結果。
PCR 條件未優化	優化變性溫度。 優化黏合/延伸溫度。

納米板孔之間的結果不一致

PCR 條件未優化	透過從 2 分鐘增加到最多 15 分鐘來優化激活時間。
-----------	-----------------------------

訂購資訊

產品	內容物	產品編號
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (1 ml)	用於製備最多四個 QIAcuityDx 納米板： 1 x QIAcuityDx Universal MasterMix，1 x MgCl ₂ ， 200 mM，2 x 無核糖核酸酶水	260101
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (5 ml)	用於製備最多二十個 QIAcuityDx 納米板： 5 x QIAcuityDx Universal MasterMix，2 x MgCl ₂ ， 200 mM，5 x 無核糖核酸酶水	260102

在處理產品時，應盡量謹慎和保持專注。我們建議 QIAGEN® 產品的所有使用者遵守任何適用的當地法規，也建議遵循任何適用的標準和準則。

文件修訂歷程記錄

日期

變更

R1, 2024 年 7 月

首次發佈

QIAcuityDx® Universal MasterMix Kit 有限授權合約

使用本產品表示產品的購買人或使用者同意以下條款：

- 本產品僅限遵守產品隨附的操作程序和本使用說明，與試劑組中包含的元件搭配使用。除了本產品隨附的操作程序、本使用說明及 www.qiagen.com 提供的額外操作程序所述情況外，QIAGEN 並未在其任何智慧財產授權中允許將本試劑組所含成分與非本試劑組所含成分搭配使用或相互整合。其中一些附加操作程序可能是由 QIAGEN 使用者為 QIAGEN 使用者所提供，這些操作程序未經 QIAGEN 全面測試或最佳化。QIAGEN 既不擔保也不保證這些操作程序不會侵犯第三方的權利。
- 除了明訂的授權外，QIAGEN 不保證本試劑組及/或其使用不會侵犯第三方的權利。
- 本試劑組及其成分僅供一次使用，不得重複使用、翻新或再銷售。
- 除了特別聲明的授權外，QIAGEN 明確否認其他一切明示或暗示的授權。
- 本試劑組的購買人和使用者同意不採取、也不允許其他人採取任何步驟從事上述任何禁止行為。QIAGEN 可在任何法院申請強制執行此有限許可協定的禁止事項，並應取得在強制執行此有限許可協定，或本檢驗組及/或其成分相關的任何智慧財產權的任何行動過程中，所產生的所有調查和訴訟費用，包括律師費。

有關最新的許可條款，請瀏覽 www.qiagen.com。

商標：QIAGEN®、Sample to Insight®、QIAcuityDx®、QuantifNova® (QIAGEN Group)；Cy® (GE Healthcare)；Taqman® (Roche Molecular Systems, Inc.)；FAM™、HEX™、ROX™、TAMRA™ (Thermo Fisher Scientific 或其子公司)。即使沒有特別標明，本文件中使用的註冊名稱、商標等也不應被視為不受法律保護。

07/2024 HB-3592-001 © 2024 QIAGEN，保留所有權利。

此頁刻意留白。

此頁刻意留白。

此頁刻意留白。

