

Manuale del kit EZ1[®] DSP DNA Blood



Versione 3

IVD

Per uso diagnostico in vitro.



REF

62124

H B

1054989EN



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANIA

R5

MAT

1054989EN



Tecnologie per campioni e test QIAGEN

QIAGEN è un fornitore leader nel settore delle tecnologie innovative per campioni e test che consentono di isolare e rilevare il contenuto di qualunque campione biologico. I nostri prodotti e servizi avanzati di alta qualità assicurano la riuscita dall'inizio alla fine.

QIAGEN definisce gli standard in:

- purificazione di DNA, RNA e proteine
- test di acido nucleico e proteine
- ricerca microRNA e RNAi
- automazione delle tecnologie per campioni e test

Il nostro obiettivo è farvi raggiungere risultati e innovazioni eccezionali. Per ulteriori informazioni, visitate il sito www.qiagen.com.

Indice generale

Contenuto del kit	5
Simboli	5
Conservazione	6
Uso previsto	6
Limiti sull'utilizzo del prodotto	7
Assistenza tecnica	7
Controllo di qualità	9
Introduzione	10
Principio e procedura	10
Prestazioni caratteristiche del sistema EZ1 DSP DNA Blood	10
Equipaggiamento e reagenti non in dotazione all'utente	28
Note importanti	30
Conservazione dei campioni di sangue	30
Precipitato in cartuccia reagente (RCB)	30
Utilizzo degli strumenti EZ1	30
Protocollo: purificazione del DNA genomico da sangue intero con l'uso di EZ1 Advanced XL	37
Protocollo: purificazione del DNA genomico da sangue intero con l'uso di EZ1 Advanced (con card V2.0)	41
*I residui dei campioni contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con ipoclorito. Vedi pagina Errore. Il segnalibro non è definito, per le informazioni sulla sicurezza.	44
Protocollo: purificazione del DNA genomico da sangue intero con l'uso di EZ1 Advanced (con card V1.0)	45
I residui dei campioni contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con ipoclorito. Vedi pagina Errore. Il segnalibro non è definito, per le informazioni sulla sicurezza.	47
Protocollo: purificazione del DNA genomico da sangue intero con l'uso di BioRobot EZ1 DSP	48
Guida alla risoluzione dei problemi	51
Appendice A: messaggi sul display	53
Appendice B: conservazione, quantificazione e determinazione della purezza del DNA	80

Appendice C: scheda di campionamento da usare con il sistema EZ1 DSP DNA Blood	82
Appendice D: esempio di file di report di EZ1 Advanced	84
Informazioni per l'ordine	87

Contenuto del kit

Kit EZ1 DSP DNA Blood				(48)	
Numero del catalogo				62124	
Numero di prep.				48	
RCB	Cartuccia reagente, sangue da 350 µl*	REAG	CART	BLOOD	48
DTH	Porta-puntali monouso	DISP	TIP	HOLD	50
DFT	Puntali monouso con filtro	DISP	FILT	TIP	50
ST	Provette di campionamento (2 ml)	SAMP	TUBE		50
ET	Provette di eluizione (1,5 ml)	ELU	TUBE		50
	Q-Card †				1
	Manuale	H	B		1

* Contiene sodio azide come conservante. Contiene sale di guanidina. Non compatibile con disinfettanti che contengono ipoclorito. Per maggiori informazioni, vedi pagina **Fehler!**
Textmarke nicht definiert..

† Le informazioni contenute nel codice a barre sulla Q-Card sono necessarie per il monitoraggio dei dati dei reagenti tramite l'uso dello strumento EZ1 Advanced o EZ1 Advanced XL.

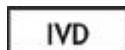
Simboli



Contiene reagenti per la preparazione di 48 campioni



In dotazione a



Dispositivo medico per diagnosi in vitro



Numero del catalogo



Numero del lotto



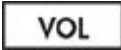




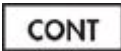





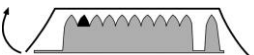
Numero del materiale



Componente



Numero

	Volume
	Limiti di temperatura
	Produttore autorizzato
	Nota importante
	Da utilizzarsi esclusivamente con
	Contiene
	Guanidina isotiocianato
	Guanidina idrocloruro
	Etanolo
	Global Trade Item Number
	Aprire alla consegna; conservare le cartucce reagenti (RCB) a 2–8°C
	Abbassare questo lato al momento dell'apertura

Conservazione

Conservare le cartucce reagenti (RCB) raffreddate a 2–8°C. Le particelle magnetiche nelle cartucce reagenti (RCB) rimangono attive se conservate a questa temperatura. Non congelare le cartucce reagenti (RCB). Se conservate a 2–8°C, le cartucce reagenti (RCB) sono stabili fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta e sulla scatola del kit. Dopo essere state rimosse dal luogo di conservazione refrigerato, le cartucce reagenti (RCB) possono essere conservate una volta a 15–25°C, ma devono essere usate entro un massimo di 4 settimane oppure entro la data di scadenza stampata sull'etichetta, sulla Q-Card o sulla scatola del kit, quale di queste si verifichi per prima.

I tamponi nella cartuccia reagente (RCB) (pozzetto 1) potrebbero formare un precipitato in fase di conservazione. La cartuccia reagente deve essere termostata a temperatura ambiente (15–25°C). Controllare prima dell'uso e ridissolvere i precipitati come descritto al paragrafo "Precipitato in cartuccia reagente (RCB)", pagina 30.

Uso previsto

Il kit EZ1 DSP DNA Blood si avvale della tecnologia a particelle magnetiche per isolare e purificare in automatico il DNA umano dai campioni biologici.

Questo prodotto è rivolto ad utenti professionisti, quali tecnici e medici che conoscono le tecniche di biologia molecolare.

Il sistema EZ1 DSP DNA Blood è inteso per l'uso diagnostico in vitro.

Limiti sull'utilizzo del prodotto

È responsabilità dell'utente collaudare l'efficacia del sistema in riferimento ad eventuali procedure applicate nel suo laboratorio e non coperte dagli studi di valutazione dell'efficacia QIAGEN.

L'efficacia del sistema è stata stabilita mediante studi di valutazione dell'efficacia usando sangue umano intero per isolare il DNA genomico.

Per ridurre al minimo il rischio di un impatto negativo sui risultati diagnostici è necessario ricorrere ad appropriati controlli delle applicazioni a valle. Per un'ulteriore convalida suggeriamo di attenersi alle direttive della Conferenza Internazionale sull'Armonizzazione dei Requisiti tecnici (ICH) in *ICH Q2(R1) Convalida delle procedure analitiche: testo e metodologia*.

Qualsiasi esito diagnostico generato deve essere interpretato in combinazione con altri esami clinici o di laboratorio.

Assistenza tecnica

Alla QIAGEN siamo orgogliosi della qualità e della disponibilità del nostro staff tecnico. Il nostro reparto di assistenza tecnica è composto da scienziati esperti che hanno alle spalle una lunga esperienza maturata a livello pratico e teorico nelle tecnologie per campioni e test e nell'impiego dei prodotti QIAGEN. In caso volette porgere delle domande o incontriate delle difficoltà con il kit EZ1 DSP DNA Blood o con i prodotti QIAGEN® in generale, vi preghiamo di non esitare a contattarci.

I clienti QIAGEN sono la fonte principale d'informazione relativa all'uso avanzato o specializzato dei nostri prodotti. Tali informazioni sono utili sia ai nostri scienziati che ai ricercatori della QIAGEN. Pertanto vi esortiamo a contattarci, in caso aveste dei suggerimenti da darci sulle prestazioni dei prodotti o su nuove applicazioni e tecniche varie.

Per ricevere assistenza tecnica e ulteriori informazioni, consultate il nostro sito www.qiagen.com/Support oppure contattate il servizio assistenza tecnica QIAGEN o il distributore locale (consultate il retro della copertina o il sito www.qiagen.com).

Avvertenze e precauzioni

Quando si opera con agenti chimici, indossare sempre un camice da laboratorio adeguato, guanti monouso e occhiali protettivi. Per ulteriori informazioni, consultare le apposite schede di sicurezza (SDS). Le schede SDS, nel pratico e compatto formato PDF, sono disponibili online all'indirizzo www.qiagen.com/safety. Qui è possibile trovare, visualizzare e stampare la scheda SDS per ciascun kit QIAGEN e i relativi componenti.



ATTENZIONE: NON aggiungere ipoclorito, né soluzioni acide direttamente ai rifiuti della preparazione dei campioni.

I tamponi nelle cartucce reagenti (RCB) contengono guanidina idrocloruro/guanidina isotiocianato che possono formare dei composti altamente reattivi se abbinati all'ipoclorito.

In caso di fuoriuscita di liquido che contiene questi tamponi, pulire con un apposito detergente da laboratorio ed acqua. Qualora del liquido, contenente agenti potenzialmente infetti, fosse versato accidentalmente sullo strumento EZ1, si dovrà procedere a disinfettare lo strumento usando i reagenti descritti nel manuale d'uso relativo allo strumento EZ1.

Le cartucce reagenti rotte o che perdono liquido (RCB) devono essere smaltite in conformità alle norme sulla sicurezza vigenti a livello locale. Non utilizzare cartucce reagenti (RCB) né altri componenti danneggiati del kit, giacché tale uso potrebbe comportare una prestazione ridotta del kit.

QIAGEN non ha testato i liquidi di scarico generati dalla procedura EZ1 DSP DNA Blood per verificare la presenza di materiali residui infetti. La contaminazione dei liquidi di scarico da parte di materiali infetti residui è altamente improbabile, ma non può essere esclusa completamente. Pertanto, i liquidi di scarico residui devono essere considerati infetti e vanno smaltiti in conformità alle normative sulla sicurezza vigenti a livello locale.

Le seguenti frasi precauzionali e di rischio sono valide per i componenti del EZ1 DSP DNA Blood Kit:

Reagent Cartridge Blood



Contiene: etanolo; guanidinio di tiocianato; cloruro di guanidinio. Pericolo! Nocivo se ingerito. Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. Liquido e vapori facilmente infiammabili. Il contatto con acidi libera gas molto tossico. Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione di rifiuti autorizzato. **IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI:** sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. **IN CASO DI CONTATTO CON LA**

PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle/ fare una doccia. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Tenere lontano da fonti di calore/scintille/fiamme libere/superfici riscaldate. - Non fumare. Conservare in luogo fresco e ben ventilato. Indossare guanti/ indumenti protettivi/ Proteggere gli occhi/ il viso.

Controllo di qualità

In conformità al Sistema di gestione della qualità con certificazione ISO della QIAGEN, ciascun lotto di kit EZ1 DSP DNA Blood viene testato con le specifiche predefinite per garantire una qualità del prodotto costante.

Introduzione

Il kit EZ1 DSP DNA Blood serve a purificare il DNA genomico da campioni di sangue intero. La tecnologia basata sulle particelle magnetiche fornisce un DNA di alta qualità, adatto per essere utilizzato direttamente nelle applicazioni a valle, quali amplificazione oppure altre reazioni enzimatiche. Lo strumento EZ1 esegue l'intera procedura per preparare fino a sei campioni (usando EZ1 Advanced o BioRobot® EZ1 DSP) o fino a quattordici campioni (usando EZ1 Advanced XL) nell'arco di una corsa.

Usando BioRobot EZ1 DSP o EZ1 Advanced con la card V1.0 del protocollo, il volume del campione immesso è 350 μ l e l'eluizione del DNA viene effettuata in 200 μ l di tampone di eluizione. Usando EZ1 Advanced XL o EZ1 Advanced con la card V2.0 del protocollo, il volume del campione immesso può essere scelto tra 200 μ l o 350 μ l, e il volume di eluizione del DNA può essere scelto tra 50 μ l, 100 μ l o 200 μ l.

Principio e procedura

La tecnologia a particelle magnetiche abbina la velocità e l'efficienza della purificazione del DNA a base di silice al pratico trattamento delle particelle magnetiche (vedi diagramma a pagina 11). Il DNA viene isolato dai lisati in un'unica fase grazie al proprio legame con la superficie di silice delle particelle, in presenza di sale caotropico. Le particelle vengono separate dai lisati con un magnete. Il DNA viene poi lavato con cura ed eluito in un apposito tampone.

Prestazioni caratteristiche del sistema EZ1 DSP DNA Blood

Robustezza del sistema

Per il prelievo dei campioni di sangue per la procedura EZ1 DSP DNA Blood si possono utilizzare varie provette primarie ed anticoagulanti.

Tabella 1 (pagina 11) mostra una panoramica delle provette per la raccolta di campioni che sono state impiegate per valutare il sistema. Tali provette sono state selezionate per soddisfare una vasta gamma di anticoagulanti e produttori di provette per la raccolta di sangue diversi. È consentito l'impiego anche di provette di altri produttori.

In Figura 1 (pagina 13) sono illustrate le rese medie relative del DNA derivanti da campioni di sangue con l'uso di provette primarie diverse.

Procedura EZ1 DSP DNA Blood

Sangue intero



Lisi

Particelle magnetiche
aggiunte ai campioni



Il DNA si lega
alle particelle
magnetiche



Magnet

Separazione
magnetica

Lavaggio



Magnet

Separazione
magnetica

Eluito



DNA puri, di alta qualità

Tabella 1. Provette per la raccolta di sangue testate con il sistema EZ1 DSP DNA Blood

Provetta	Abbreviazione	Produttore	N. cat.*	Volume di prelievo nominale (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	21.066.001	9
Monovette LH	LH	Sarstedt	21.065.001	9
Monovette CDPA1	CPDA1	Sarstedt	11.610.001	8,5
Vacurette® K3E	K3E	Greiner Bio-One	455036	9
Vacurette 9NC	V 9NC	Greiner Bio-One	454382	9

* I numeri di catalogo sono soggetti a variazione; si prega di controllarli con il produttore o con il fornitore.

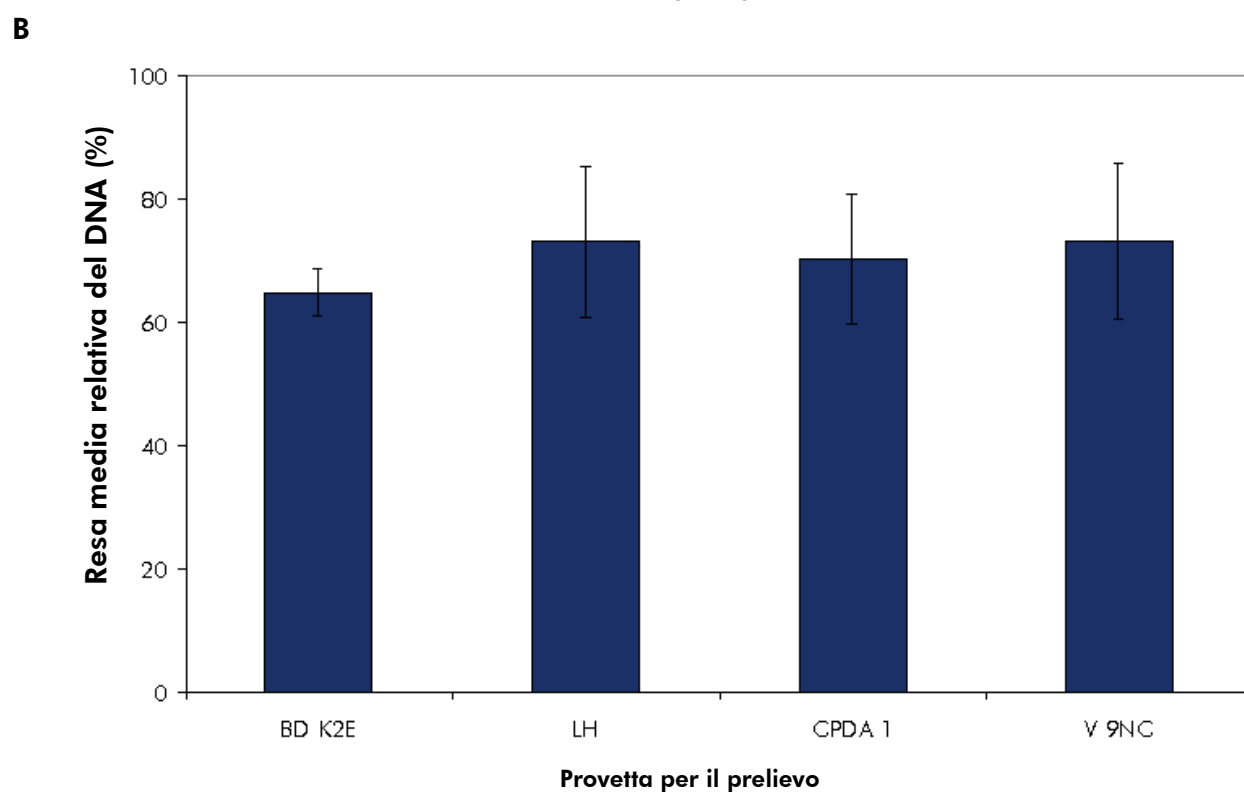
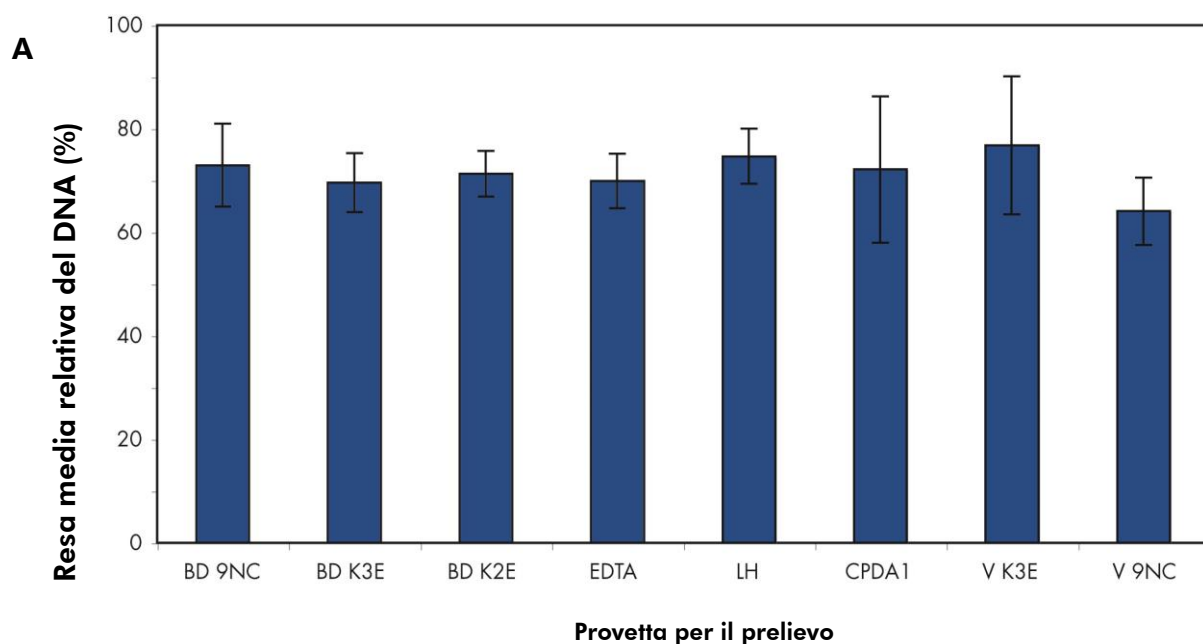


Figura 1. Robustezza del sistema con l'uso di provette per il prelievo e anticoagulanti diversi. Il sangue intero è stato prelevato da sei donatori sani in otto diversi tipi di provette con replicati di 3 per ciascun donatore e ciascuna provetta. Le provette utilizzate sono elencate in

Tabella 1 (pagina 11). **A** Il sangue è stato prelevato da 6 donatori in 8 diversi tipi di provette. Il DNA genomico è stato purificato da campioni da 350 μ l con eluizione in 200 μ l. **B** Il sangue è stato prelevato da 4 donatori in 4 diversi tipi di provette. Il DNA genomico è stato purificato da campioni da 200 μ l usando il sistema EZ1 DSP DNA Blood su EZ1 Advanced XL, con eluizione in 200 μ l. Le rese teoriche del DNA da ciascun donatore e da ciascuna provetta

sono state accertate in base al numero di globuli bianchi. Le barre mostrano la resa relativa media del DNA (rispetto alla resa teorica) con la deviazione standard.

Congelamento-scongelamento di campioni

È possibile usare i campioni di sangue umano intero freschi o congelati (vedi “Conservazione dei campioni di sangue”, a pagina 30). Sono stati accertati gli effetti del congelamento e dello scongelamento di campioni di sangue nella purificazione del DNA con il sistema EZ1 DSP DNA Blood (Figura 2).

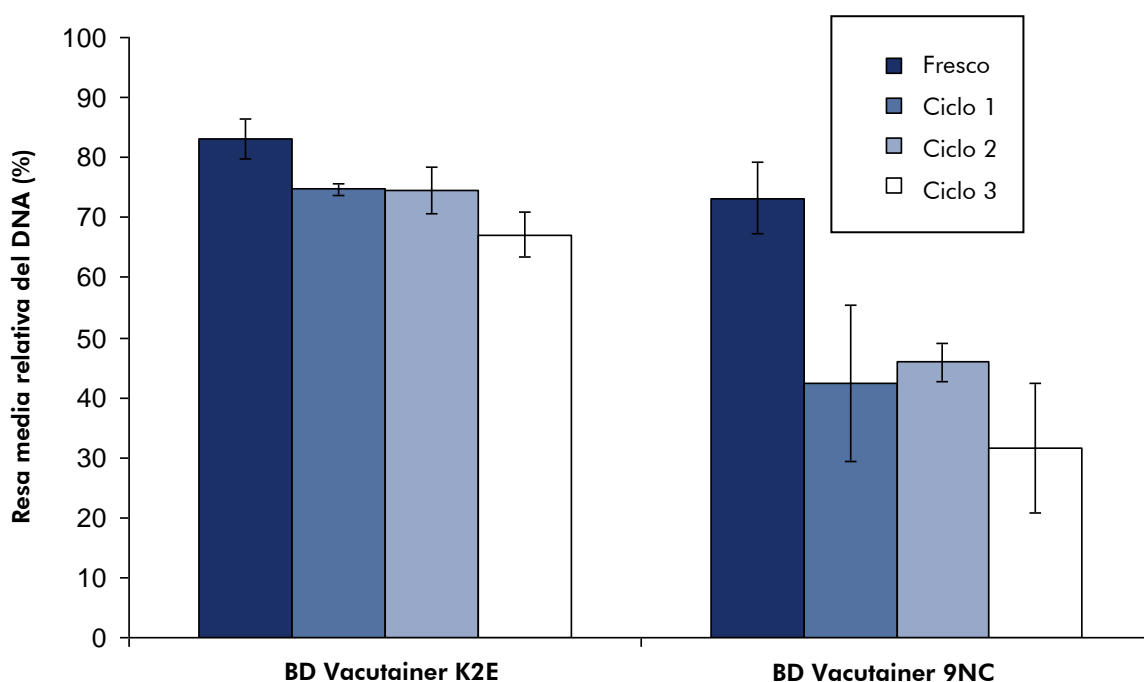


Figura 2. Effetto dei cicli di congelamento-scongelamento sulle rese del DNA. Il sangue intero è stato prelevato da 3 donatori sani nelle provette indicate, con 6 replicati ciascuno. Le provette utilizzate sono elencate in

Tabella 1. Il DNA genomico è stato purificato da 350 μ l di ogni campione usando il sistema EZ1 DSP DNA Blood e, per ogni donatore ed ogni provetta, sono stati calcolati i valori medi della resa relativa del DNA (**Fresco**). Le provette contenenti il sangue sono state congelate e scongelate tre volte. Il DNA genomico è stato purificato al termine di ciascun ciclo di congelamento-scongelamento (**Ciclo 1 – Ciclo 3**) utilizzando il sistema EZ1 DSP DNA Blood, stabilendo così la resa relativa del DNA. Per congelare-scongelare si raccomanda di adoperare delle provette con EDTA come anticoagulante.

Resa del DNA purificato

Il DNA genomico è stato purificato da campioni di sangue da 350 μ l provenienti da donatori sani. La quantità di DNA purificato con la procedura EZ1 DSP DNA Blood dipende dal numero di globuli bianchi di ogni campione di sangue e le rese possono variare da donatore a donatore (Figura 3).

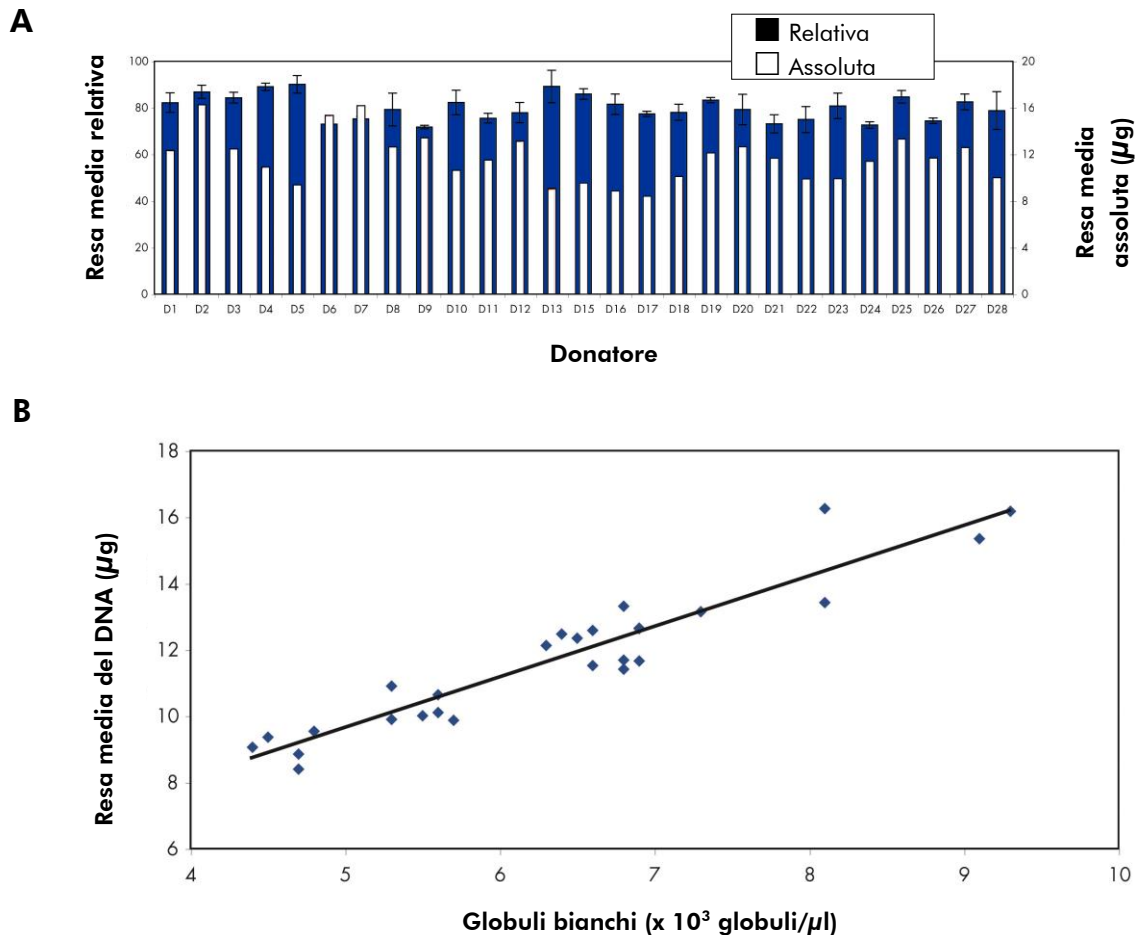


Figura 3. Rese medie relative ed assolute del DNA da donatori differenti. Il sangue intero è stato prelevato da 27 donatori in triplicato. Il DNA genomico è stato purificato da ogni campione da 350 µl, con l'uso del sistema EZ1 DSP DNA Blood. **A** La resa teorica del DNA è stata calcolata in base al numero di globuli bianchi. Per ogni donatore vengono mostrate le rese medie assolute (**Assoluta**) e relative (**Relativa**) del DNA (rispetto al calcolo della resa teorica). **B** Le rese medie assolute vengono mostrate per ogni donatore in relazione al numero di globuli bianchi.

Concentrazione di DNA purificato con l'uso di volumi di eluizione diversi

Il DNA genomico è stato purificato da campioni di sangue da 250 µl e 350 µl derivante da donatori sani con l'uso della procedura EZ1 DSP DNA Blood su EZ1 Advanced XL con tre volumi di eluizione diversi (Figura 4).

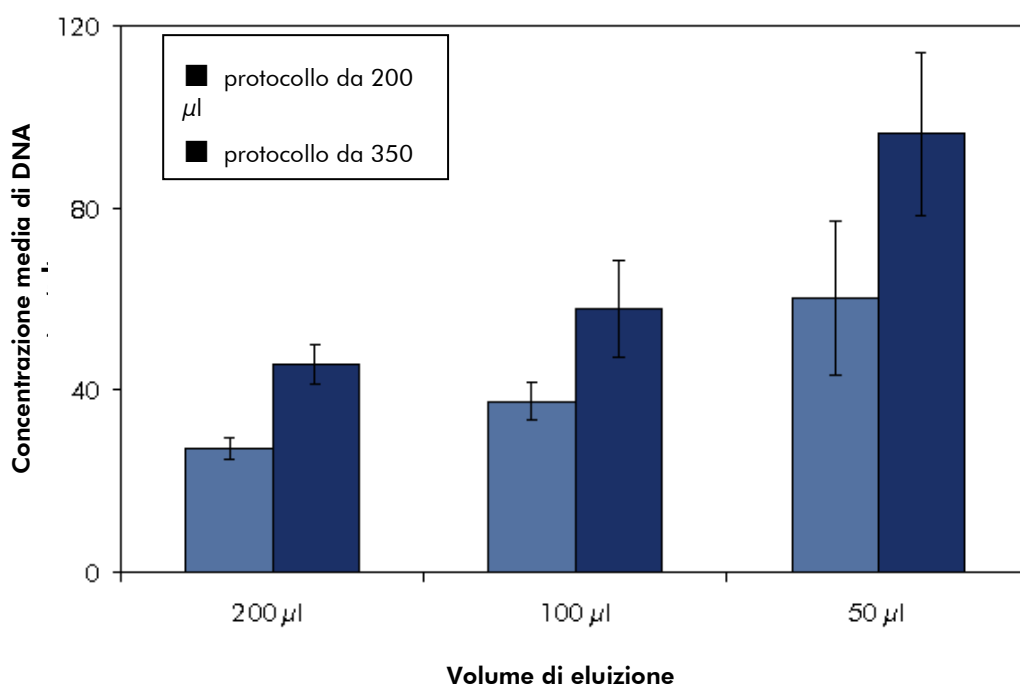


Figura 4. Concentrazione media di DNA ottenuta con volumi di eluizione diversi. Il sangue intero è stato prelevato da 3 donatori. Il DNA genomico è stato purificato da 200 µl e 350 µl di ciascun campione ed eluito in 200 µl, 100 µl, and 50 µl, ciascuno in triplicato, con l'uso del sistema EZ1 DSP DNA Blood su EZ1 Advanced XL. Per ciascun protocollo e volume di eluizione viene mostrata la concentrazione media di DNA.

i A causa del basso volume del tampone di eluizione e a causa del riscaldamento del tampone di eluizione durante il procedimento, l'eluizione con 50 µl può portare ad un eluito finale inferiore a 50 µl.

Eluizione di DNA genomico puro

Il DNA genomico viene eluito in un tampone di eluizione a basso contenuto di sale. Il DNA eluito è pronto all'uso per test diagnostici in vitro a valle, quali i kit *artus*[®] PCR con contrassegno CE-IVD.

Il sangue intero è stato prelevato da 30 donatori di sangue scelti a caso e il DNA è stato purificato da campioni da 350 µl ed eluito in 200 µl con l'uso del sistema EZ1 DSP DNA Blood. I kit *artus* MTHFR LC PCR e *artus* TPMT LC PCR sono stati usati per accertare delle varianti genetiche clinicamente rilevanti nel gene della metilene tetraidrofolato reduttasi (MTHFR) e della tiopurina S-metiltransferasi (TPMT). I campioni sono stati analizzati su uno strumento LightCycler[®]. I dati sono riportati nelle tabelle 2 e 3 (inizio a pagina 18 e 21), con analisi della curva di fusione e distribuzione in percentuale delle varianti del gene MTHFR che sono illustrate nelle figure 5 e 6 (pagina 20 e 21).

Tabella 2. Polimorfismo del nucleotide 677 e del nucleotide 1298 del gene MTHFR rilevato con l'uso del kit *artus* MTHFR LC PCR

Numero campione	Nucleotide 677	Nucleotide 1298	Genotipo
1	eterozigote var	omozigote wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
2	omozigote wt	omozigote wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298
3	omozigote wt	eterozigote var	wt677/wt677 wt1298/var1298
4	omozigote var	omozigote wt	var677/var677 wt1298/wt1298
5	omozigote wt	eterozigote var	wt677/wt677 wt1298/var1298
6	omozigote wt	eterozigote var	wt677/wt677 wt1298/var1298
7	eterozigote var	omozigote wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
8	omozigote wt	omozigote wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298
9	omozigote wt	eterozigote var	wt677/wt677 wt1298/var1298
10	eterozigote var	eterozigote var	wt677/var677 wt1298/var1298
11	omozigote wt	eterozigote var	wt677/wt677 wt1298/var1298
12	omozigote wt	omozigote wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298
13	omozigote wt	omozigote wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298

var: allele variante nella posizione indicata del gene MTHFR.

wt: allele di riferimento nella posizione indicata del gene MTHFR.
La tabella continua alla pagina seguente.

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 2. Continua

Numero campione	Nucleotide 677	Nucleotide 1298	Genotipo
14	eterozigote var	omozigote wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
15	eterozigote var	omozigote wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
16	omozigote wt	eterozigote var	wt677/wt677 wt1298/var1298
17	omozigote var	omozigote wt	var677/var677 wt1298/wt1298
18	eterozigote var	omozigote wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
19	omozigote wt	eterozigote var	wt677/wt677 wt1298/var1298
20	omozigote wt	eterozigote var	wt677/wt677 wt1298/var1298
21	omozigote wt	omozigote var	wt677/wt677 var1298/var1298
22	eterozigote var	omozigote wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
23	eterozigote var	eterozigote var	wt677/var677 wt1298/var1298
24	eterozigote var	omozigote wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
25	omozigote wt	eterozigote var	wt677/wt677 wt1298/var1298
26	omozigote wt	omozigote var	wt677/wt677 var1298/var1298
27	omozigote wt	eterozigote var	wt677/wt677 wt1298/var1298

var: allele variante nella posizione indicata del gene MTHFR.

wt: allele di riferimento nella posizione indicata del gene MTHFR.
La tabella continua alla pagina seguente.

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 2. Continua

Numero campione	Nucleotide 677	Nucleotide 1298	Genotipo
28	eterozigote var	eterozigote var	wt677/var677 wt1298/var1298
29	eterozigote var	omozigote wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
30	omozigote var	omozigote wt	var677/var677 wt1298/wt1298

var: allele variante nella posizione indicata del gene MTHFR.

wt: allele di riferimento nella posizione indicata del gene MTHFR.

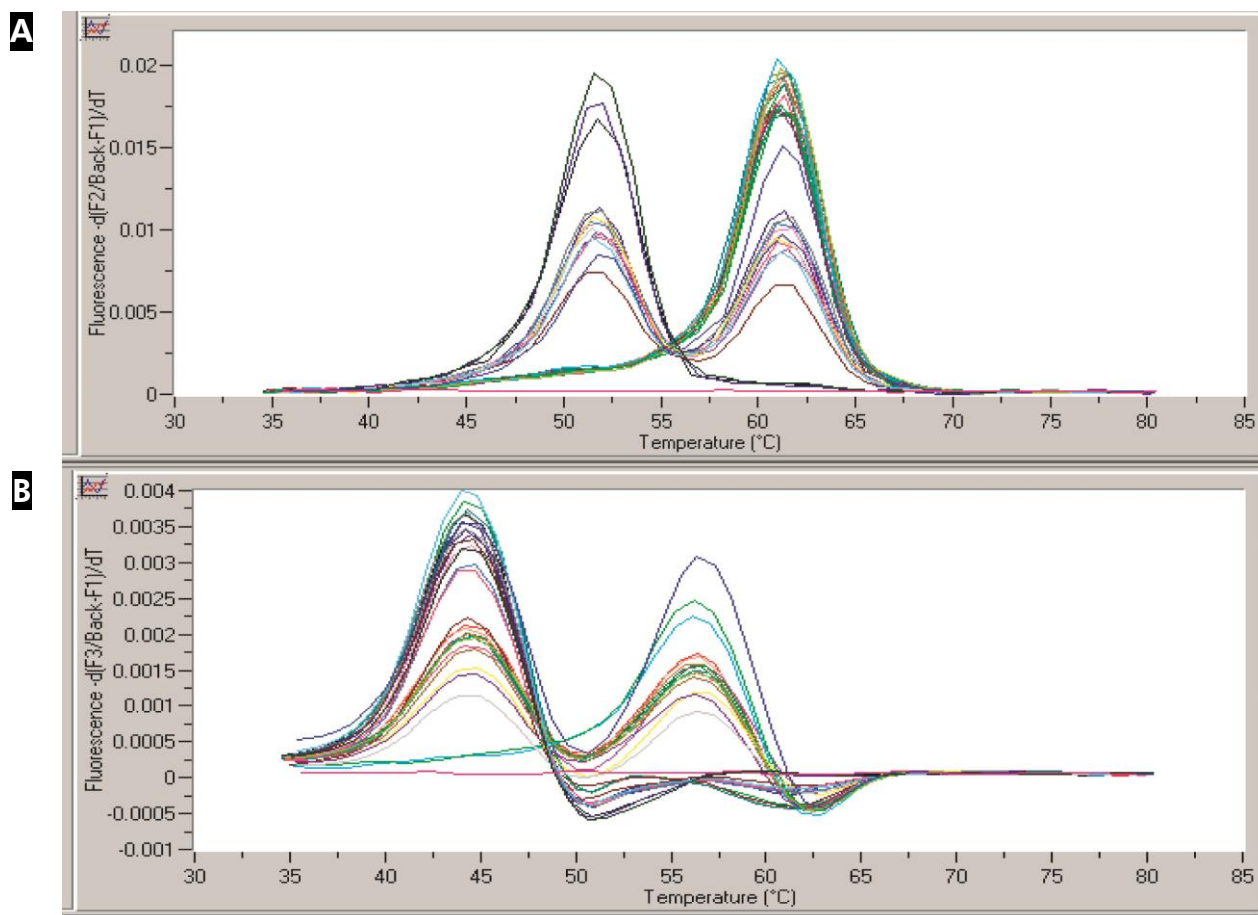


Figura 5. Analisi della curva di fusione dei prodotti di amplificazione dei nucleotidi 677 e 1298 del gene MTHFR. Il DNA è stato purificato dal sangue intero di 30 donatori con l'uso del sistema EZ1 DSP DNA Blood. Gli eluiti sono stati analizzati con l'uso del kit *artus* MTHFR LC PCR con contrassegno CE-IVD, con l'analisi della curva di fusione sullo strumento LightCycler. **A** Analisi del nucleotide 677. **B** Analisi del nucleotide 1298.

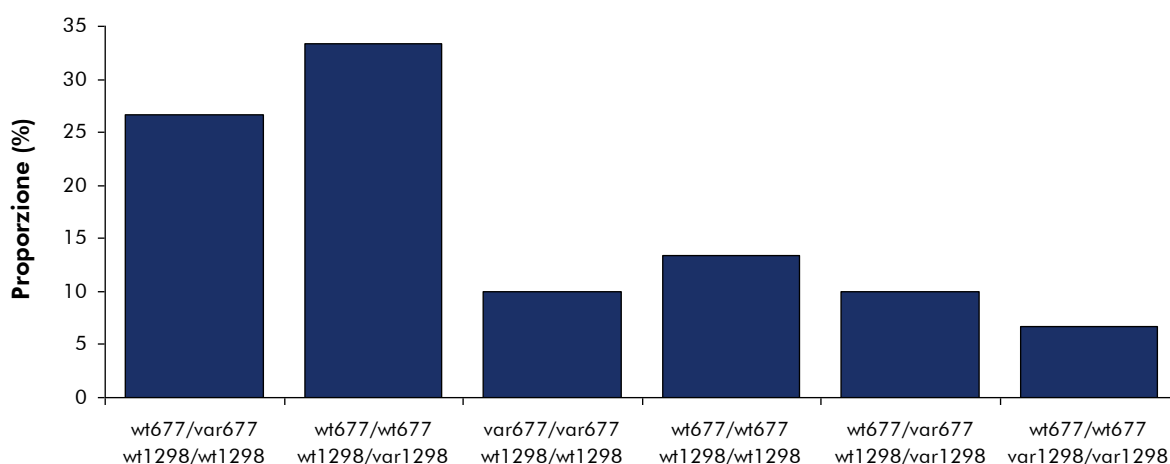


Figura 6. Distribuzione dei genotipi rilevati per il gene MTHFR. I dati in Tabella 2 e Figura 5 sono riassunti graficamente in proporzione ad ogni genotipo rilevato.

Tabella 3. Polimorfismo del gene TPMT rilevato con l'uso del kit artus TPMT LC PCR

Numero campione	Genotipo TPMT
1	TPMT*1/*1
2	TPMT*1/*1
3	TPMT*1/*1
4	TPMT*1/*1
5	TPMT*1/*1
6	TPMT*1/*3A o TPMT*3C/*3B
7	TPMT*1/*1
8	TPMT*1/*3A o TPMT*3C/*3B
9	TPMT*1/*1
10	TPMT*1/*3A o TPMT*3C/*3B
11	TPMT*1/*1
12	TPMT*1/*1
13	TPMT*1/*1
14	TPMT*1/*1

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 3. Continua

Numero campione	Genotipo TPMT
15	TPMT*1/*1
16	TPMT*1/*1
17	TPMT*1/*3A o 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

Test inibitorio

Sono stati accertati gli effetti delle quantità crescenti di eluito utilizzato nella PCR sulle prestazioni PCR (Figura 7).

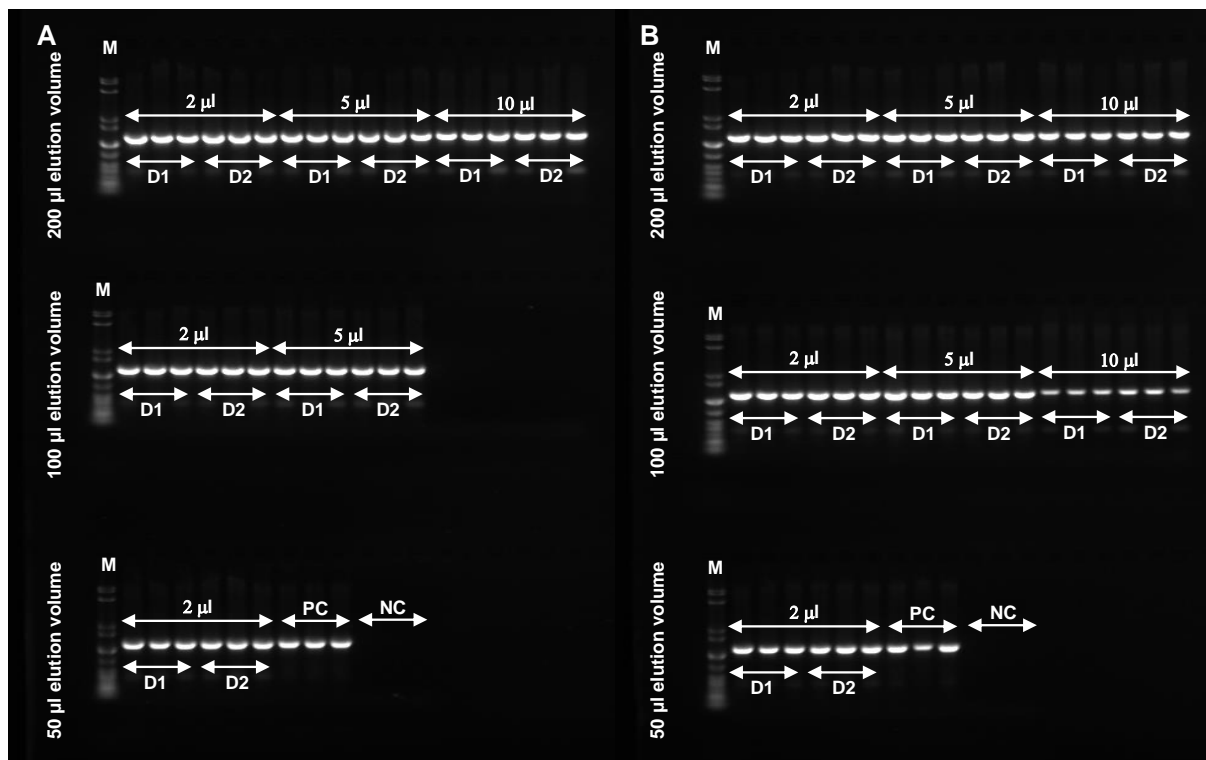


Figura 7. Effetti del volume di eluito utilizzato nella PCR sulle prestazioni PCR. Il sangue intero è stato prelevato da due donatori sani (**D1**, **D2**) in provette BD K2E. Il DNA genomico è stato purificato da aliquote da 350 µl (**A**) e 200 µl (**B**) in triplicato con l'uso del sistema EZ1 DSP DNA Blood. Il DNA è stato eluito in 200 µl, 100 µl, o 50 µl (**volume di eluizione**). La quantità indicata di eluito è stata utilizzata in una PCR da 50 µl con primer per un frammento di gene umano in singola copia da 1100 bp. **PC**: controllo positivo. **NC**: controllo negativo. **M**: basso peso molecolare del DNA. (Si tenga presente che l'uso di grandi quantità di concentrazioni elevate di DNA può causare il sovraccarico della PCR, come mostrato, ad esempio, dalle bande più lievi con l'uso di 10 µl di un'eluizione da 100 µl nella PCR.)

Analisi di precisione

Le rese del DNA da 350 μl di sangue umano intero sono state confrontate in diverse corse con l'uso del sistema EZ1 DSP DNA Blood su EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL. I dati di precisione inter-corsa vengono mostrati come deviazioni standard delle rese del DNA (Figura 8).

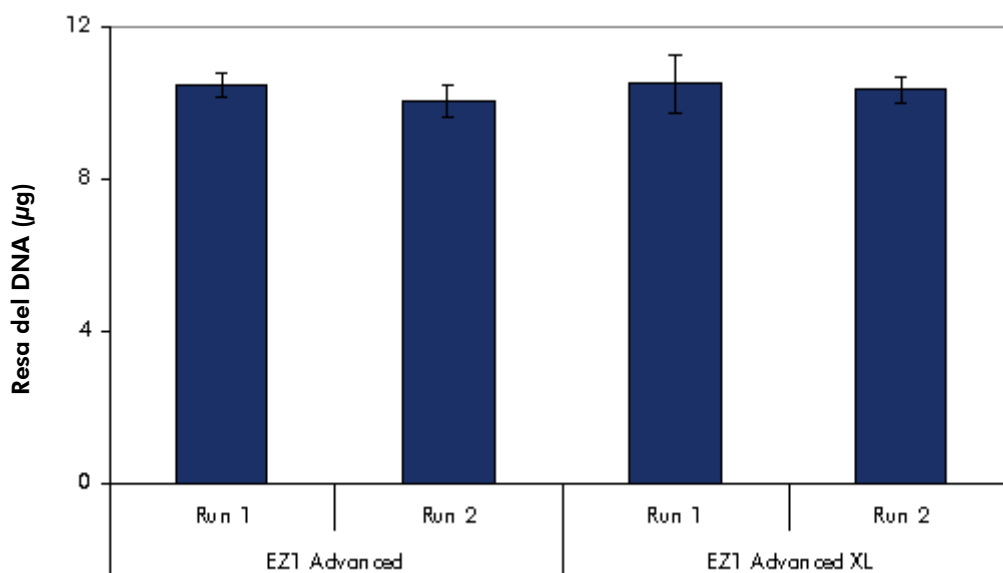


Figura 8. Precisione intra- e inter-corsa con l'uso del sistema EZ1 DSP DNA Blood. Il sangue è stato prelevato da un donatore sano in provette BD K2E e riunito prima dell'uso. Il DNA genomico è stato purificato da dodici aliquote da 350 μl in due corse (**Corsa 1, Corsa 2**) di 6 replicati ciascuno su EZ1 Advanced, e da ventiquattro aliquote da 350 μl in due corse (**Corsa 1, Corsa 2**) di 14 replicati ciascuno su EZ1 Advanced XL con l'uso del sistema EZ1 DSP DNA Blood. Per ogni corsa, vengono mostrate la resa media totale del DNA e la deviazione standard. I valori relativi alla precisione intra-corsa erano pari al 2,90% (Corsa 1, EZ1 Advanced), al 3,80% (Corsa 2, EZ1 Advanced), al 7,17% (Corsa 1, EZ1 Advanced XL), e al 3,45% (Corsa 2, EZ1 Advanced XL), e la precisione totale è stata pari al 5,17%.

Stabilità dell'eluito

La stabilità del DNA genomico negli eluiti EZ1 è stata dimostrata fino a 24 mesi se conservato a 5°C e fino a 36 mesi se conservato a -20°C o -80°C.

Esclusione del trascinamento tra campioni

Con l'uso di EZ1 Advanced (con la card V2.0 del protocollo; 350 μ l di campione immesso, 200 μ l di eluizione) sono state eseguite dodici corse e con l'uso di EZ1 Advanced XL (200 μ l di campione immesso, 200 μ l di eluizione) sono state eseguite nove corse del sistema EZ1 DSP DNA Blood per valutare il rischio di eventi di contaminazione incrociata durante e tra le varie procedure EZ1 DSP DNA Blood. Per rilevare il trascinamento tra campioni, le corse sono state eseguite con campioni di sangue maschile (positivo) e campioni di sangue femminile (negativo) in posizioni alternate, come mostrato in Tabella 4 e Tabella 5. Una corsa ogni tre è stata eseguita utilizzando soltanto campioni di sangue femminile. Per amplificare un frammento di gene SRY specifico del cromosoma Y in singola copia da 78 bp, tutti gli eluiti sono stati testati con l'uso del kit QIAGEN QuantiTect® Probe PCR.

Tabella 4. Test per la contaminazione incrociata EZ1 Advanced e valori C_T dei campioni positivi (maschili)

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

F: campioni femminili (negativi).

Numeri: valori C_T dei campioni maschili (positivi).

Tabella 5. Test per la contaminazione incrociata EZ1 Advanced XL e valori C_T dei campioni positivi (maschili)

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

F: campioni femminili (negativi).

Numeri: valori C_T dei campioni maschili (positivi).

Tutti i campioni di sangue maschili sono risultati positivi nella PCR (i valori C_T sono elencati in Tabella 4 e Tabella 5), e tutti i campioni di sangue femminili sono risultati negativi. Questi esperimenti dimostrano che la procedura EZ1

DSP DNA Blood non provoca un trascinamento tra campioni in queste condizioni.

Equipaggiamento e reagenti non in dotazione all'utente

Quando si opera con agenti chimici, indossare sempre un camice da laboratorio adeguato, guanti monouso e occhiali protettivi. Per ulteriori informazioni, consultare le rispettive schede di sicurezza (SDS), disponibili presso il fornitore dei prodotti.

Tutti i protocolli

- Pipette* e puntali per pipette, sterili, senza RNasi
- Tessuto di carta soffice
- Acqua
- 70% di etanolo
- Opzionale: agitatore/incubatore* (se le cartucce reagenti [RCB] contengono precipitati sul fondo dei pozzetti)
- Opzionale: microcentrifuga* (se si devono rimuovere le particelle magnetiche dagli eluiti)

Per gli utenti di BioRobot EZ1

- Strumento BioRobot EZ1 DSP* (interrotto)
- Card EZ1 DSP DNA Blood (num. cat. 9017713)

Per gli utenti di EZ1 Advanced

- Strumento EZ1 Advanced* (interrotto)
- Card EZ1 Advanced DSP DNA Blood (num. cat. 9018305)

Per gli utenti di EZ1 Advanced XL

- Strumento EZ1 Advanced XL* (num. cat. 9001492)
- Card EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood (num. cat. 9018702)

Per gli utenti di EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL

- Per il monitoraggio dei campioni è richiesto uno dei seguenti dispositivi:
 - PC (monitor incluso; QIAGEN PC, num. cat. 9016310, e monitor, num. cat. 9016308, il proprio PC e monitor) con EZ1 Advanced

*Assicurarsi che gli strumenti siano stati controllati e calibrati periodicamente secondo le disposizioni del produttore.

Communicator Software (software in dotazione con gli strumenti EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL)

- Stampante (num. cat. 9018464) e accessori per stampante (num. cat. 9018465)
- Opzionale: 80% di etanolo* e provette da 2 ml con tappo avvitato (se si esegue la procedura di lavaggio in sequenza con 80% di etanolo opzionale su EZ1 Advanced con l'uso della card V2.0 del protocollo o su EZ1 Advanced XL, vedi "Operazioni da eseguire prima di iniziare", pagine 37 e 41)

* Non usare alcol denaturato contenente altre sostanze quali il metanolo o il metiletilchetone.

Note importanti

Conservazione dei campioni di sangue

È possibile usare dei campioni di sangue intero trattati con EDTA, ACD oppure eparina* e possono essere sia freschi che congelati. I campioni congelati andrebbero scongelati a temperatura ambiente (15–25°C) agitandoli leggermente prima di essere usati. La resa e la qualità del DNA purificato dipendono dalle condizioni di conservazione del sangue. I campioni di sangue più freschi possono produrre risultati migliori.

- Per la conservazione a breve termine (fino a 10 giorni) prelevare il sangue in provette contenenti EDTA come anticoagulante e conservare le provette a 2–8°C. Tuttavia, per le applicazioni che richiedono frammenti di massime dimensioni quali il Southern blotting, suggeriamo una conservazione a 2–8°C fino a 3 giorni, in vista dei bassi livelli di degradazione del DNA che si registreranno dopo questo periodo.
- Per una conservazione a lungo termine, occorre prelevare il sangue in provette contenenti un anticoagulante standard (preferibilmente EDTA, se si richiede un elevato peso molecolare di DNA) e conservare le provette a –70°C.
- Non usare sangue che mostri segni di coagulazione.

Precipitato in cartuccia reagente (RCB)

Il tampone nel pozzetto 1 della cartuccia reagente (RCB) (il pozzetto più vicino alla parte anteriore dello strumento EZ1 quando si carica la cartuccia reagente [RCB]) potrebbe formare un precipitato in fase di conservazione. La cartuccia reagente deve essere termostata a temperatura ambiente (15–25°C) prima dell'uso. Se necessario, dissolvere di nuovo agitando leggermente a 30–40°C.

Utilizzo degli strumenti EZ1

Le principali caratteristiche degli strumenti EZ1 comprendono:

- la purificazione degli acidi nucleici di alta qualità da 1–6 o 1–14 campioni per corsa
- ingombro minimo per limitare lo spazio occupato in laboratorio
- card EZ1 DSP preprogrammate contenenti protocolli pronti all'uso
- cartucce reagenti riempite in precedenza e sigillate per la preparazione in maniera facile, rapida e sicura

* Quando si opera con agenti chimici, indossare sempre un camice da laboratorio adeguato, guanti monouso e occhiali protettivi. Per ulteriori informazioni, consultare le rispettive schede di sicurezza (SDS), disponibili presso il fornitore dei prodotti.

- l'automazione completa della purificazione degli acidi nucleici

Le caratteristiche aggiuntive di EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL comprendono:

- lettura dei codici a barre e monitoraggio dei campioni
- monitoraggio dei dati del kit con la Q-Card contenuta nel kit
- lampada UV per aiutare ad eliminare il trascinamento tra campioni e per consentire la decontaminazione

i La decontaminazione UV aiuta a ridurre l'eventuale contaminazione da patogeni delle superfici del piano di lavoro EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL. L'efficacia dell'inattivazione deve essere determinata per ciascun organismo specifico e dipende, ad esempio, dallo spessore dello strato e dal tipo di campione. QIAGEN non può garantire la totale eradicazione di specifici agenti patogeni.

Card EZ1

Il protocollo EZ1 DSP DNA Blood è conservato sulle card EZ1 preprogrammate (card a circuito integrato). L'utente inserisce semplicemente la card EZ1 nell'apposito strumento EZ1 e lo strumento è pronto ad eseguire un protocollo (Figure 9 e 10).



Figura 9. Setup agevolato del protocollo tramite le card EZ1 DSP. Inserimento di una card EZ1, contenente il protocollo, nello strumento EZ1.

i Lo strumento dovrebbe essere attivato solo una volta inserita la card EZ1. Verificare che la card EZ1 sia stata inserita completamente, altrimenti potrebbe verificarsi una perdita di dati essenziali della strumentazione con conseguente errore di memoria. È consigliabile non rimuovere la card EZ1 quando lo strumento è in funzione.



Figura 10. Card EZ1 completamente inserita nell'apposito alloggiamento.

Cartucce reagenti (RCB)

I reagenti per purificare gli acidi nucleici da un singolo campione sono contenuti in una singola cartuccia reagente (RCB) (Figura 11, pagina 33). Ogni pozzetto della cartuccia (RCB) contiene un particolare reagente, quali particelle magnetiche, tampone di lisi, tampone di lavaggio oppure tampone di eluizione (AVE). Visto che ogni pozzetto contiene soltanto la quantità di reagente richiesta, si evita di generare ulteriori rifiuti dovuti ai reagenti residui alla fine del processo di purificazione.

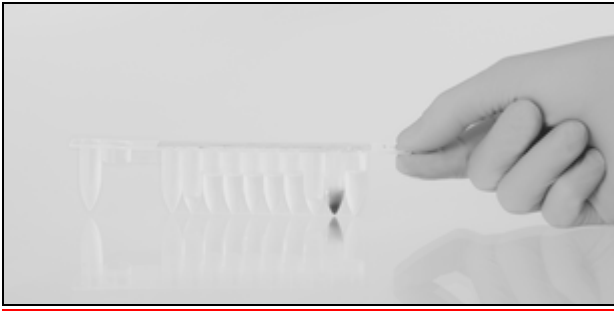
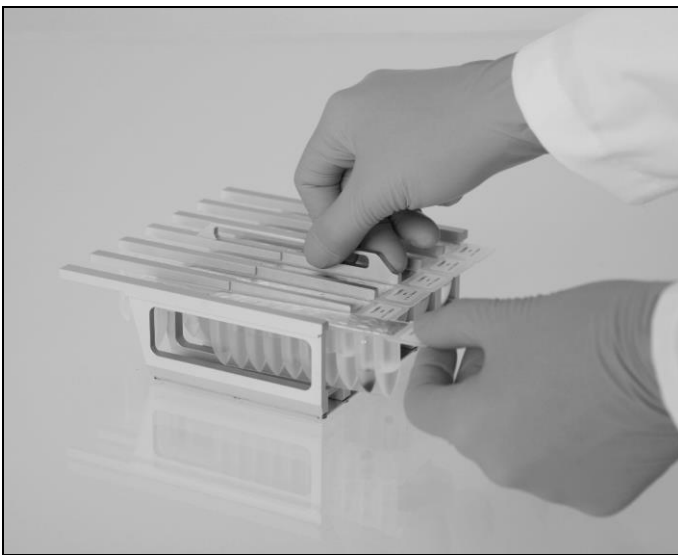
A**B**

Figura 11. Agevole setup dello strumento con l'uso delle cartucce reagenti (RCB). **A**

Una cartuccia reagente sigillata, riempita in precedenza (RCB). **B** Caricamento delle cartucce reagenti (RCB) nell'apposito supporto. Il supporto delle cartucce stesso è contrassegnato da una freccia che indica la direzione nella quale devono essere caricate le cartucce reagenti (RCB).

Piano di lavoro

Il piano di lavoro degli strumenti EZ1 quello dove l'utente carica i campioni insieme ai componenti del kit EZ1 DSP DNA Blood (Figura 12, pagina 34).

I dettagli relativi alla preparazione del piano di lavoro vengono visualizzati sul display fluorescente a vuoto (VFD) di EZ1 Advanced o EZ1 Advanced XL o sul display a cristalli liquidi (LCD) del pannello di controllo BioRobot EZ1 DSP quando l'utente avvia la preparazione del piano di lavoro.

Il display dello strumento visualizza anche lo stato del protocollo durante il processo di purificazione automatico.

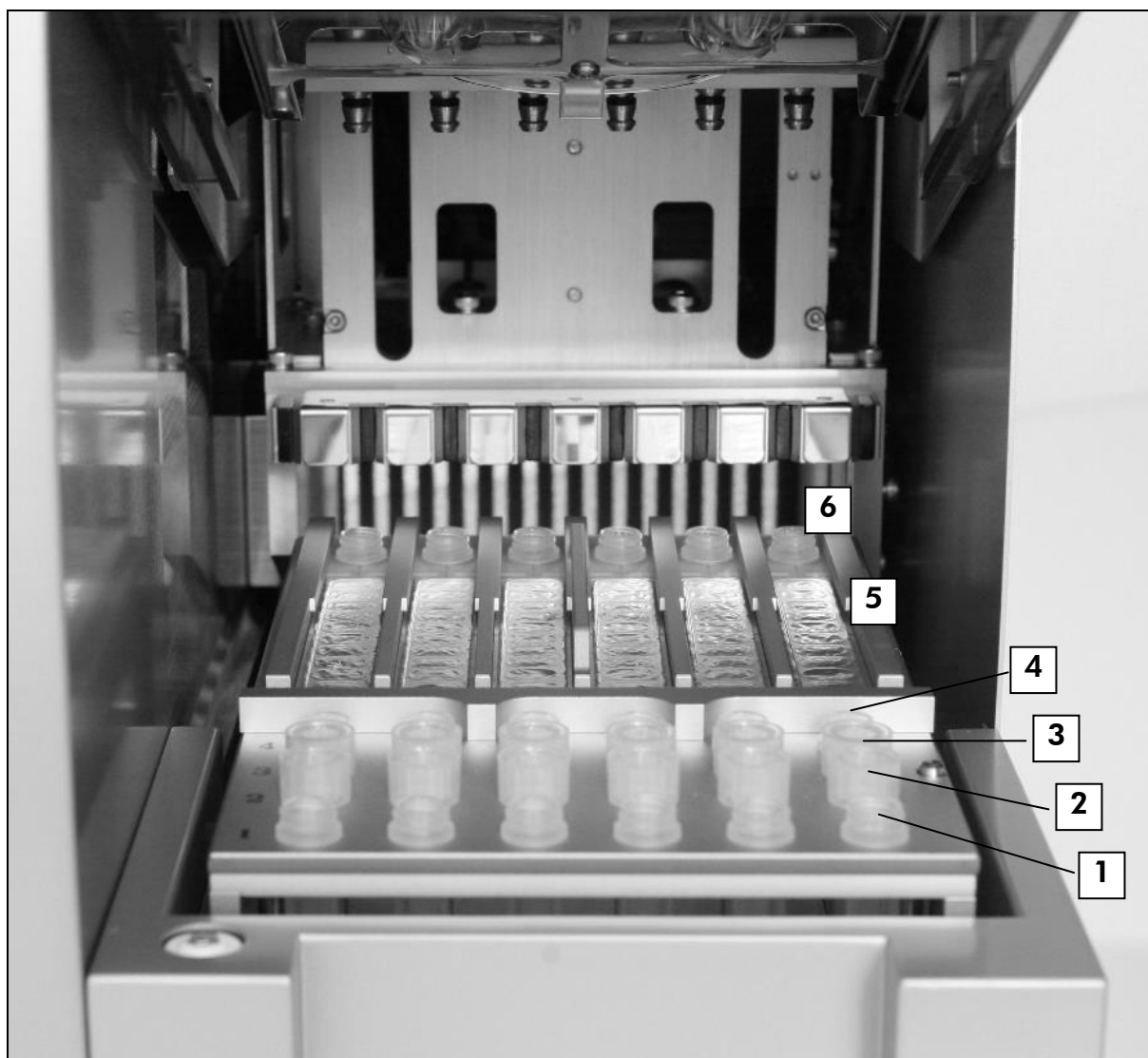


Figura 12. Piano di lavoro di uno strumento EZ1.

1. Provette di eluizione (ET) (1,5 ml) caricate nella prima fila.
2. Porta-puntali monouso (DTH) contenenti puntali monouso con filtro (DFT) caricati nella seconda fila.
3. La terza fila è vuota per il protocollo EZ1 DSP DNA Blood. (Opzionale: Se si esegue la procedura di lavaggio in sequenza con 80% di etanolo opzionale, le provette da 2 ml contenenti 1800 μ l ciascuna di 80% di etanolo vengono caricate in questa fila).
4. Provette di campionamento (ST) (2 ml) caricate nella quarta fila.
5. Cartucce reagenti (RCB) caricate nel supporto delle cartucce.
6. Il blocco riscaldante è vuoto per il protocollo EZ1 DSP DNA Blood.


Monitoraggio dei dati con EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL

EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL consentono il monitoraggio completo di numerosi dati per aumentare il controllo e l'affidabilità del processo. Il numero di lotto e le date di scadenza del kit EZ1 vengono inseriti all'inizio del protocollo tramite il codice a barre della Q-Card. L'ID utente e il codice a barre della Q-

Card possono essere inseriti manualmente tramite la tastiera o la scansione dei codici a barre usando l'apposito lettore manuale. Le informazioni relative a campioni e test possono anche essere inserite all'inizio del protocollo. Alla fine dell'esecuzione di ciascuna corsa del protocollo viene automaticamente generato un file di report. EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL possono memorizzare fino a 10 file di report e i dati possono essere trasferiti ad un PC o direttamente alla stampante (per informazioni sull'ordine, vedi "Equipaggiamento e reagenti non in dotazione all'utente", a pagina 28).

Per ricevere i file di report su un PC, è necessario installare l'EZ1 Advanced Communicator Software. Il software riceve il file di report e lo salva in una cartella definita dall'utente. Una volta ricevuto il file di report sul PC, è possibile utilizzarlo ed elaborarlo tramite LIMS (Laboratory Information Management System) o un altro programma. Nell'appendice D viene riportato un esempio di file di report (pagina 84). Nei file di report, i 6 canali di pipettaggio di EZ1 Advanced vengono denominati, da sinistra a destra, canali da A a F oppure i 14 canali di pipettaggio di EZ1 Advanced XL vengono denominati, da sinistra a destra, canali 1–14.

Durante la scansione dell'ID utente o del codice a barre della Q-Card tramite il lettore, l'inserimento dei dati viene confermato da un segnale acustico. Dopo una visualizzazione di due secondi, le informazioni vengono automaticamente salvate ed appare il messaggio successivo. Durante la scansione di ID campione, ID kit test o note, l'emissione di un segnale acustico conferma l'inserimento dei dati, quindi vengono visualizzate le informazioni ed appare un messaggio che chiede di inserire le informazioni successive. Al termine della scansione dell'ID campione, ID kit test e note, premere "ENT" una volta per confermare la correttezza delle informazioni inserite. Se, ad esempio, per un campione si è eseguita la scansione di un codice a barre errato, premere "ESC" e ripetere la scansione di tutti i codici a barre dei campioni seguendo le istruzioni che appaiono sullo schermo. Per quanto riguarda gli ID utente e le note, è possibile inserire i numeri da tastiera oppure generare i propri codici a barre per codificare tali numeri.

 Per il monitoraggio dei dati, iniziare a caricare i campioni sempre dalla posizione A su EZ1 Advanced e dalla posizione 1 su EZ1 Advanced XL. Posizionare i restanti campioni di seguito sulle posizioni aperte successive del piano di lavoro.

Per maggiori dettagli sul monitoraggio con l'uso di EZ1 Advanced Communicator software, vedi il *Manuale utente EZ1 Advanced* o il *Manuale utente EZ1 Advanced XL*.

Flusso di lavoro del sistema EZ1 DSP DNA Blood

Introdurre la card EZ1 DSP DNA Blood nell'alloggiamento per la card EZ1



Accendere lo strumento EZ1



Seguire il messaggio sullo schermo per il monitoraggio dei dati*



Seguire i messaggi sullo schermo per la preparazione del piano di lavoro



Avviare il protocollo



Prelevare il DNA purificato



Decontaminazione UV*

* Solo per EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL.

Protocollo: purificazione del DNA genomico da sangue intero con l'uso di EZ1 Advanced XL

Punti importanti prima di iniziare

- Se si usa per la prima volta il kit EZ1 DSP DNA Blood, leggere “Note importanti” a pagina 30.
- Le cartucce reagenti (RCB) contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con i reagenti disinfettanti che contengono ipoclorito. Prendere adeguate misure di sicurezza ed indossare dei guanti per maneggiarli. Vedi pagina **Fehler! Textmarke nicht definiert.** per le informazioni sulla sicurezza.
- Eseguire tutte le fasi del protocollo a temperatura ambiente (15–25°C). Operare rapidamente durante la fase di preparazione.
- Dopo aver ricevuto il kit, controllare se i componenti del kit si sono danneggiati. Se le cartucce reagenti (RCB) oppure i componenti del kit si sono danneggiati, contattate il centro di assistenza tecnica della QIAGEN oppure il distributore di zona.
- In caso di fuoriuscita dei liquidi, consultare “Avvertenze e precauzioni” (pagina 7-8). Non utilizzare cartucce reagenti (RCB) né altri componenti danneggiati del kit, giacché tale uso potrebbe comportare una prestazione ridotta del kit.
- La resa del DNA genomico dipende dal numero di globuli bianchi presenti nel campione.


Operazioni da eseguire prima di iniziare

- Il tampone di lisi nella cartuccia reagente (RCB) potrebbe formare un precipitato in fase di conservazione. La cartuccia reagente deve essere termostatata a temperatura ambiente (15–25°C) prima dell'uso. Se necessario, ridissolvere riscaldandolo a 30–40°C e poi sistemarlo a temperatura ambiente.
- Il protocollo prevede un'opzione per eseguire lavaggi con 80% di etanolo al posto del tampone fornito nella cartuccia reagente. Questo potrebbe rivelarsi vantaggioso per alcune applicazioni a valle. Se viene selezionata questa opzione, bisogna posizionare nella fila 3 del piano di lavoro delle provette da 2 ml contenenti 1800 µl ciascuna di 80% di etanolo (vedi Figura 12, pagina 34). Per la preparazione dell'80% di etanolo sufficiente per 14 campioni, aggiungere 6 ml di acqua priva di nucleasi a 24 ml di

100% di etanolo.* Seguire le istruzioni fornite nei messaggi visualizzati sullo schermo.

Procedura

1. Portare fino a 14 campioni di sangue intero a temperatura ambiente.

 Accertarsi che i campioni congelati siano stati scongelati completamente e portati a temperatura ambiente per un periodo sufficiente a raggiungere l'equilibrio. Anche se i campioni sono stati conservati a 2–8°C, devono essere portati a temperatura ambiente. La temperatura di tutti i campioni dovrebbe essere di 15–25°C prima di avviare la procedura per garantire una resa e una purezza ottimali del DNA.

2. Introdurre completamente la card EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood nell'alloggiamento per la card EZ1 di EZ1 Advanced XL.

3. Accendere lo strumento EZ1.

L'interruttore di alimentazione è collocato nella parte posteriore dello strumento.

4. Premere "START" (AVVIO) per avviare la preparazione del protocollo e del piano di lavoro del protocollo EZ1 DSP DNA Blood.

5. Seguire le istruzioni sullo schermo per la preparazione del piano di lavoro, la selezione delle variabili del protocollo e per il monitoraggio dei dati.

6. Premere "1" o "2" per avviare la preparazione rispettivamente del piano di lavoro del protocollo DSP da 200 µl o del protocollo da 350 µl.

7. Scegliere il volume di eluizione: premere "1" per eluire in 50 µl; "2" per eluire in 100 µl; "3" per eluire in 200 µl.


8. Scegliere se si desidera eseguire i lavaggi con 80% di etanolo opzionale.

Il testo sintetizza le seguenti sequenze che descrivono la modalità per caricare il piano di lavoro.


9. Aprire lo sportello dello strumento.

10. Capovolgere le cartucce reagenti 1–14 (RCB) quattro volte per miscelare le particelle magnetiche. Poi battere le cartucce (RCB) per depositare i reagenti sul fondo dei pozzetti.

11. Caricare le cartucce reagenti nell'apposito supporto.

 Dopo aver inserito una cartuccia reagente (RCB) nel supporto delle cartucce, premere sulla cartuccia fino allo scatto in posizione.

* Non usare alcol denaturato contenente altre sostanze quali il metanolo o il metiletilchetone.

 Per il monitoraggio dei dati, iniziare a caricare i campioni sempre dalla posizione 1 su EZ1 Advanced XL. Posizionare i restanti campioni di seguito sulle posizioni aperte successive del piano di lavoro.

Quando si sceglie l'opzione di monitoraggio dati, verificare che l'ID campione segua lo stesso ordine dei campioni sul piano di lavoro per evitare di confondere i dati.

12. Seguire le istruzioni sullo schermo per continuare nella preparazione del piano di lavoro.

13. Chiudere lo sportello dello strumento.

14. Premere "START" per avviare il protocollo.

15. Al termine del protocollo, sul display compare il messaggio "Protocol finished" (protocollo finito). Premere "ENT" per generare il file di report.

EZ1 Advanced XL può memorizzare fino a 10 file di report. I file di report possono essere stampati direttamente tramite una stampante collegata oppure trasferiti su un computer.

16. Aprire lo sportello dello strumento.

17. Rimuovere le provette di eluizione contenenti il DNA purificato dalla prima fila. Smaltire i rifiuti della preparazione dei campioni.*

18. Opzionale: seguire le istruzioni sullo schermo per eseguire la decontaminazione UV delle superfici del piano di lavoro.

* I residui dei campioni contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con ipoclorito. Vedi pagina **Fehler! Textmarke nicht definiert.** per le informazioni sulla sicurezza.

19. Eseguire la manutenzione periodicamente come descritto nel manuale utente fornito con lo strumento EZ1.

La manutenzione ordinaria deve avvenire alla fine di ciascuna corsa del protocollo. Essa prevede la pulizia del perforatore e delle superfici del piano di lavoro.

 Il perforatore è affilato! Si raccomanda l'uso di due guanti.

20. Per eseguire un altro protocollo, premere "START" (AVVIO), eseguire le fasi 1 e 2 del protocollo e poi seguire il protocollo dalla fase 5. Altrimenti premere "STOP" due volte per tornare alla schermata iniziale del display, chiudere lo sportello dello strumento e spegnere lo strumento EZ1.

Le fasi 3–4 non servono quando si esegue un altro protocollo. Saltare queste fasi.

Protocollo: purificazione del DNA genomico da sangue intero con l'uso di EZ1 Advanced (con card V2.0)

Questo protocollo si riferisce all'uso con la card V2.0 di EZ1 Advanced DSP DNA Blood, una versione aggiornata della card V1.0 originale. Se si usa la card V1.0, seguire "Protocollo: purificazione del DNA genomico da sangue intero con l'uso di EZ1 Advanced (con card V1.0)", pagina 45.

Il protocollo sulla card V2.0 comprende delle opzioni del protocollo supplementari che consentono l'uso di volumi del campione immesso e volumi di eluizione diversi nonché la procedura di lavaggio in sequenza con 80% di etanolo opzionale. Se si utilizzano volumi del campione immesso, volumi di eluizione e tamponi di lavaggio originali, il protocollo sulla card V2.0 è analogo al protocollo sulla card V1.0 originale.

Punti importanti prima di iniziare

- Se si usa per la prima volta il kit EZ1 DSP DNA Blood, leggere "Note importanti" a pagina 30.
- Le cartucce reagenti (RCB) contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con i reagenti disinfettanti che contengono ipoclorito. Prendere adeguate misure di sicurezza ed indossare dei guanti per maneggiarli. Vedi pagina **Fehler! Textmarke nicht definiert.** per le informazioni sulla sicurezza.
- Eseguire tutte le fasi del protocollo a temperatura ambiente (15–25°C). Operare rapidamente durante la fase di preparazione.
- Dopo aver ricevuto il kit, controllare se i componenti del kit si sono danneggiati. Se le cartucce reagenti (RCB) oppure i componenti del kit si sono danneggiati, contattate il centro di assistenza tecnica della QIAGEN oppure il distributore di zona. In caso di fuoriuscita dei liquidi, consultare "Avvertenze e precauzioni" (pagina 7-8). Non utilizzare cartucce reagenti (RCB) né altri componenti danneggiati del kit, giacché tale uso potrebbe comportare una prestazione ridotta del kit.
- La resa del DNA genomico dipende dal numero di globuli bianchi presenti nel campione.

Operazioni da eseguire prima di iniziare


- Il tampone di lisi nella cartuccia reagente (RCB) potrebbe formare un precipitato in fase di conservazione. La cartuccia reagente deve essere termostatata a temperatura ambiente (15–25°C) prima dell'uso. Se

necessario, ridissolvere riscaldandolo a 30–40°C e poi sistemarlo a temperatura ambiente.

- Il protocollo prevede un'opzione per eseguire lavaggi con 80% di etanolo al posto del tampone fornito nella cartuccia reagente. Questo potrebbe rivelarsi vantaggioso per alcune applicazioni a valle. Se viene selezionata questa opzione, bisogna posizionare nella fila 3 del piano di lavoro delle provette da 2 ml contenenti 1800 µl ciascuna di 80% di etanolo (vedi Figura 12, pagina 34). Per la preparazione dell'80% di etanolo sufficiente per 6 campioni, aggiungere 3 ml di acqua priva di nucleasi a 12 ml di 100% di etanolo.* Seguire le istruzioni fornite nei messaggi visualizzati sullo schermo.

Procedura

1. Portare fino a 6 campioni di sangue intero a temperatura ambiente.

 Accertarsi che i campioni congelati siano stati scongelati completamente e portati a temperatura ambiente per un periodo sufficiente a raggiungere l'equilibrio. Anche se i campioni sono stati conservati a 2–8°C, devono essere portati a temperatura ambiente. La temperatura di tutti i campioni dovrebbe essere di 15–25°C prima di avviare la procedura per garantire una resa e una purezza ottimali del DNA.

2. Introdurre completamente la card EZ1 Advanced DSP DNA Blood (V2.0) nell'alloggiamento per la card EZ1 di EZ1 Advanced.

3. Accendere lo strumento EZ1.

L'interruttore di alimentazione è collocato nella parte posteriore dello strumento.

4. Premere "START" (AVVIO) per avviare la preparazione del protocollo e del piano di lavoro del protocollo EZ1 DSP DNA Blood.

5. Seguire le istruzioni sullo schermo per la preparazione del piano di lavoro, la selezione delle variabili del protocollo e per il monitoraggio dei dati.

6. Premere "1" o "2" per avviare la preparazione rispettivamente del piano di lavoro del protocollo DSP da 200 µl o del protocollo da 350 µl.

7. Scegliere il volume di eluizione: premere "1" per eluire in 50 µl; "2" per eluire in 100 µl; "3" per eluire in 200 µl.

8. Scegliere se si desidera eseguire i lavaggi con 80% di etanolo opzionale.

Il testo sintetizza le seguenti sequenze che descrivono la modalità per caricare il piano di lavoro.

* Non usare alcol denaturato contenente altre sostanze quali il metanolo o il metiletilchetone.

- 9. Aprire lo sportello dello strumento.**
- 10. Capovolgere le cartucce reagenti 1–6 (RCB) quattro volte per miscelare le particelle magnetiche. Poi battere le cartucce (RCB) per depositare i reagenti sul fondo dei pozzetti.**
- 11. Caricare le cartucce reagenti nell'apposito supporto.**
 - i** Dopo aver inserito una cartuccia reagente (RCB) nel supporto delle cartucce, premere sulla cartuccia fino allo scatto in posizione.
 - i** Per il monitoraggio dei dati, iniziare a caricare i campioni sempre dalla posizione A su EZ1 Advanced. Posizionare i restanti campioni di seguito sulle posizioni aperte successive del piano di lavoro.

Quando si sceglie l'opzione di monitoraggio dati, verificare che l'ID campione segua lo stesso ordine dei campioni sul piano di lavoro per evitare di confondere i dati.
- 12. Seguire le istruzioni sullo schermo per continuare nella preparazione del piano di lavoro.**
- 13. Chiudere lo sportello dello strumento.**
- 14. Premere "START" per avviare il protocollo.**
- 15. Al termine del protocollo, sul display compare il messaggio "Protocol finished" (protocollo finito). Premere "ENT" per generare il file di report.**

EZ1 Advanced può memorizzare fino a 10 file di report. I file di report possono essere stampati direttamente tramite una stampante collegata oppure trasferiti su un computer.
- 16. Aprire lo sportello dello strumento.**
- 17. Rimuovere le provette di eluizione contenenti il DNA purificato dalla prima fila. Smaltire i rifiuti della preparazione dei campioni.***
- 18. Opzionale: seguire le istruzioni sullo schermo per eseguire la decontaminazione UV delle superfici del piano di lavoro.**
- 19. Eseguire la manutenzione periodicamente come descritto nel manuale utente fornito con lo strumento EZ1.**

La manutenzione ordinaria deve avvenire alla fine di ciascuna corsa del protocollo. Essa prevede la pulizia del perforatore e delle superfici del piano di lavoro.

 - i** Il perforatore è affilato! Si raccomanda l'uso di due guanti.
- 20. Per eseguire un altro protocollo, premere "START" (AVVIO), eseguire le fasi 1 e 2 del protocollo e poi seguire il protocollo dalla fase 5. Altrimenti premere "STOP" due volte per tornare alla schermata**

iniziale del display, chiudere lo sportello dello strumento e spegnere lo strumento EZ1.

Le fasi 3–4 non servono quando si esegue un altro protocollo. Saltare queste fasi.

*I residui dei campioni contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con ipoclorito. Vedi pagina **Fehler! Textmarke nicht definiert.** per le informazioni sulla sicurezza.

Protocollo: purificazione del DNA genomico da sangue intero con l'uso di EZ1 Advanced (con card V1.0)

Questo protocollo si riferisce all'uso con la card V1.0 originale di EZ1 Advanced DSP DNA Blood. Se si usa la card V2.0, seguire "Protocollo: purificazione del DNA genomico da sangue intero con l'uso di EZ1 Advanced (con card V2.0)", pagina 41.

Il protocollo sulla card V2.0 comprende delle opzioni del protocollo supplementari che consentono l'uso di volumi del campione immesso e volumi di eluizione diversi nonché la procedura di lavaggio in sequenza con 80% di etanolo opzionale. Se si utilizzano volumi del campione immesso, volumi di eluizione e tamponi di lavaggio originali, il protocollo sulla card V2.0 è analogo al protocollo sulla card V1.0 originale.

Punti importanti prima di iniziare

- Se si usa per la prima volta il kit EZ1 DSP DNA Blood, leggere "Note importanti" a pagina 30.
- Le cartucce reagenti (RCB) contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con i reagenti disinfettanti che contengono ipoclorito. Prendere adeguate misure di sicurezza ed indossare dei guanti per maneggiarli. Vedi pagina **Fehler! Textmarke nicht definiert.** per le informazioni sulla sicurezza.
- Eseguire tutte le fasi del protocollo a temperatura ambiente (15–25°C). Operare rapidamente durante la fase di preparazione.
- Dopo aver ricevuto il kit, controllare se i componenti del kit si sono danneggiati. Se le cartucce reagenti (RCB) oppure i componenti del kit si sono danneggiati, contattate il centro di assistenza tecnica della QIAGEN oppure il distributore di zona. In caso di fuoriuscita dei liquidi, consultare "Avvertenze e precauzioni" (pagina 7-8). Non utilizzare cartucce reagenti (RCB) né altri componenti danneggiati del kit, giacché tale uso potrebbe comportare una prestazione ridotta del kit.
- La resa del DNA genomico dipende dal numero di globuli bianchi presenti nel campione.


Operazioni da eseguire prima di iniziare

- Il tampone di lisi nella cartuccia reagente (RCB) potrebbe formare un precipitato in fase di conservazione. La cartuccia reagente deve essere termostatata a temperatura ambiente (15–25°C) prima dell'uso. Se

necessario, ridissolvere riscaldandolo a 30–40°C e poi sistemarlo a temperatura ambiente.

Procedura

1. Portare fino a 6 campioni di sangue intero a temperatura ambiente.

 Accertarsi che i campioni congelati siano stati scongelati completamente e portati a temperatura ambiente per un periodo sufficiente a raggiungere l'equilibrio. Anche se i campioni sono stati conservati a 2–8°C, devono essere portati a temperatura ambiente. La temperatura di tutti i campioni dovrebbe essere di 15–25°C prima di avviare la procedura per garantire una resa e una purezza ottimali del DNA.

2. Introdurre completamente la card EZ1 Advanced DSP DNA Blood (V1.0) nell'alloggiamento per la card EZ1 di EZ1 Advanced.

3. Accendere lo strumento EZ1.


L'interruttore di alimentazione è collocato nella parte posteriore dello strumento.


4. Premere "START" (AVVIO) per avviare la preparazione del piano di lavoro del protocollo EZ1 DSP DNA Blood.

5. Aprire lo sportello dello strumento.

6. Capovolgere le cartucce reagenti 1–6 (RCB) quattro volte per miscelare le particelle magnetiche. Poi battere le cartucce (RCB) per depositare i reagenti sul fondo dei pozzetti.

7. Seguire le istruzioni sullo schermo per la preparazione del piano di lavoro, la selezione delle variabili del protocollo e per il monitoraggio dei dati.

 Dopo aver inserito una cartuccia reagente (RCB) nel supporto delle cartucce, premere sulla cartuccia fino allo scatto in posizione.

 Per il monitoraggio dei dati, iniziare a caricare i campioni sempre dalla posizione A su EZ1 Advanced. Posizionare i restanti campioni di seguito sulle posizioni aperte successive del piano di lavoro.

Quando si sceglie l'opzione di monitoraggio dati, verificare che l'ID campione segua lo stesso ordine dei campioni sul piano di lavoro per evitare di confondere i dati.

8. Chiudere lo sportello dello strumento.

9. Premere "START" per avviare il protocollo.

10. Al termine del protocollo, sul display compare il messaggio "Protocol finished" (protocollo finito). Premere "ENT" per generare il file di report.

EZ1 Advanced può memorizzare fino a 10 file di report. I file di report possono essere stampati direttamente tramite una stampante collegata oppure trasferiti su un computer.

- 11. Aprire lo sportello dello strumento.**
- 12. Rimuovere le provette di eluizione contenenti il DNA purificato dalla prima fila. Smaltire i rifiuti della preparazione dei campioni.***
- 13. Opzionale: seguire le istruzioni sullo schermo per eseguire la decontaminazione UV delle superfici del piano di lavoro.**
- 14. Eseguire la manutenzione periodicamente come descritto nel manuale utente fornito con lo strumento EZ1.**

La manutenzione ordinaria deve avvenire alla fine di ciascuna corsa del protocollo. Essa prevede la pulizia del perforatore e delle superfici del piano di lavoro.



Il perforatore è affilato! Si raccomanda l'uso di due guanti.

- 15. Per eseguire un altro protocollo, premere "START" (AVVIO), eseguire le fasi 1 e 2 del protocollo e poi seguire il protocollo dalla fase 5. Altrimenti premere "STOP" due volte per tornare alla schermata iniziale del display, chiudere lo sportello dello strumento e spegnere lo strumento EZ1.**

Le fasi 3–4 non servono quando si esegue un altro protocollo. Saltare queste fasi.

* I residui dei campioni contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con ipoclorito. Vedi pagina Fehler! Textmarke nicht definiert. per le informazioni sulla sicurezza.

Protocollo: purificazione del DNA genomico da sangue intero con l'uso di BioRobot EZ1 DSP

Punti importanti prima di iniziare


- Se si usa per la prima volta il kit EZ1 DSP DNA Blood, leggere “Note importanti” a pagina 30.
- Le cartucce reagenti (RCB) contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con i reagenti disinfettanti che contengono ipoclorito. Prendere adeguate misure di sicurezza ed indossare dei guanti per maneggiarli. Vedi pagina **Fehler! Textmarke nicht definiert.** per le informazioni sulla sicurezza.
- Eseguire tutte le fasi del protocollo a temperatura ambiente (15–25°C). Operare rapidamente durante la fase di preparazione.
- Dopo aver ricevuto il kit, controllare se i componenti del kit si sono danneggiati. Se le cartucce reagenti (RCB) oppure i componenti del kit si sono danneggiati, contattate il centro di assistenza tecnica della QIAGEN oppure il distributore di zona. In caso di fuoriuscita dei liquidi, consultare “Avvertenze e precauzioni” (pagina 7-8). Non utilizzare cartucce reagenti (RCB) né altri componenti danneggiati del kit, giacché tale uso potrebbe comportare una prestazione ridotta del kit.
- La resa del DNA genomico dipende dal numero di globuli bianchi presenti nel campione.

Operazioni da eseguire prima di iniziare

- Il tampone di lisi nella cartuccia reagente (RCB) potrebbe formare un precipitato in fase di conservazione. La cartuccia reagente deve essere termostatata a temperatura ambiente (15–25°C) prima dell'uso. Se necessario, ridissolvere riscaldandolo a 30–40°C e poi sistemarlo a temperatura ambiente.

Procedura

1. Portare fino a 6 campioni di sangue intero a temperatura ambiente.

 Accertarsi che i campioni congelati siano stati scongelati completamente e portati a temperatura ambiente per un periodo sufficiente a raggiungere l'equilibrio. Anche se i campioni sono stati conservati a 2–8°C, devono essere portati a temperatura ambiente. La temperatura di tutti i campioni dovrebbe essere di 15–25°C prima di avviare la procedura per garantire una resa e una purezza ottimali del DNA.

2. Introdurre completamente la card EZ1 Advanced DSP DNA Blood nell'alloggiamento per la card EZ1 di BioRobot EZ1 DSP.

3. Accendere lo strumento EZ1.


L'interruttore di alimentazione è collocato nella parte posteriore dello strumento.


4. Premere "START" (AVVIO) per avviare la preparazione del piano di lavoro del protocollo EZ1 DSP DNA Blood.

5. Aprire lo sportello dello strumento.

6. Capovolgere le cartucce reagenti 1–6 (RCB) quattro volte per miscelare le particelle magnetiche. Poi battere le cartucce (RCB) per depositare i reagenti sul fondo dei pozzetti.

7. Seguire le istruzioni sullo schermo per la preparazione del piano di lavoro e la selezione delle variabili del protocollo.

 Dopo aver inserito una cartuccia reagente (RCB) nel supporto delle cartucce, premere sulla cartuccia fino allo scatto in posizione.

 Se vi sono meno di sei cartucce reagenti (RCB), possono essere caricate sul supporto in qualsiasi ordine. Tuttavia, quando si caricano le altre provette da laboratorio, assicurarsi che queste ultime seguano lo stesso ordine.

8. Chiudere lo sportello dello strumento.

9. Premere "START" per avviare il protocollo.

Al termine del protocollo, sul display compare il messaggio "Protocol finished" (protocollo finito).


10. Aprire lo sportello dello strumento.

11. Rimuovere le provette di eluizione contenenti il DNA purificato dalla prima fila. Smaltire i rifiuti della preparazione dei campioni.*

*I residui dei campioni contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con ipoclorito. Vedi pagina **Fehler! Textmarke nicht definiert.** per le informazioni sulla sicurezza.

12. Eseguire la manutenzione periodicamente come descritto nel manuale utente fornito con lo strumento EZ1.

La manutenzione ordinaria deve avvenire alla fine di ciascuna corsa del protocollo. Essa prevede la pulizia del perforatore e delle superfici del piano di lavoro.

 Il perforatore è affilato! Si raccomanda l'uso di due guanti.

13. Per eseguire un altro protocollo, premere "START" (AVVIO), eseguire le fasi 1 e 2 del protocollo e poi seguire il protocollo dalla fase 5. Altrimenti premere "STOP" due volte per tornare alla schermata iniziale del display, chiudere lo sportello dello strumento e spegnere lo strumento EZ1.

Le fasi 3–4 non servono quando si esegue un altro protocollo. Saltare queste fasi.

Guida alla risoluzione dei problemi

La presente guida alla risoluzione dei problemi può essere utile per risolvere qualsiasi problema che possa nascere. Per maggiori informazioni, consultare anche la pagina delle domande frequenti (FAQ) nel nostro servizio di assistenza tecnica: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Gli esperti del centro di assistenza tecnica della QIAGEN sono sempre lieti di rispondere a qualsiasi domanda che riguardi le informazioni ed i protocolli presenti in questo manuale, oppure le tecnologie per campioni e test (per le informazioni sui contatti, vedere sul retro oppure visitare il sito www.qiagen.com).

Commenti e raccomandazioni

Trattamento generale

Messaggio di errore sul display dello strumento

❗ Consultare il manuale utente fornito con lo strumento EZ1.

Bassa resa del DNA

a) Particelle magnetiche non completamente risospese

❗ Assicurarsi di risospendere completamente le particelle magnetiche prima di caricare le cartucce reagenti (RCB) nell'apposito supporto.

b) Reagente aspirato insufficiente

❗ Dopo aver capovolto le cartucce reagenti (RCB) per risospendere le particelle magnetiche, assicurarsi di battere le cartucce (RCB) per depositare i reagenti sul fondo dei pozzetti.

c) Campioni di sangue congelati non miscelati correttamente dopo lo scongelamento

❗ Scongela i campioni congelati in un incubatore* o a bagnomaria* a 30–40°C agitando leggermente per garantire una miscela omogenea.

d) Precipitati visibili sul fondo dei pozzetti delle cartucce reagenti (RCB)

❗ Collocare le cartucce reagenti (RCB) in un agitatore/incubatore ed incubare a 30–40°C agitando leggermente per 2 ore. Non usare le cartucce reagenti (RCB) se i precipitati non si ridissolvono.

* Assicurarsi che gli strumenti siano stati controllati e calibrati periodicamente secondo le disposizioni del produttore.

Commenti e raccomandazioni

Mancata resa buona del DNA nelle applicazioni a valle

- a) DNA insufficiente nell'applicazione a valle
- ⓘ Quantificare il DNA purificato usando uno spettrofotometro per determinare l'assorbanza a 260 nm (vedi "Quantificazione del DNA", a pagina 80).
- b) DNA in eccesso nell'applicazione a valle
- ⓘ L'eccesso di DNA può inibire alcune reazioni enzimatiche. Quantificare il DNA purificato usando uno spettrofotometro per determinare l'assorbanza a 260 nm (vedi "Quantificazione del DNA", a pagina 80).
- c) Inibizione dell'applicazione a valle
- ⓘ Alcune applicazioni a valle potrebbero avere una maggiore prestazione se, al posto di lavaggi con l'uso di tamponi nelle cartucce reagenti, vengono eseguiti lavaggi con 80% di etanolo. Tale opzione è disponibile quando si usa la card V2.0 di EZ1 Advanced DSP DNA Blood (vedi pagina 41) o la card di EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood (vedi pagina 37).

Basso rapporto A_{260}/A_{280} per gli acidi nucleici purificati

- Valore di assorbanza a 320 nm non sottratto dai valori di assorbanza ottenuti a 260 nm e 280 nm
- ⓘ Per correggere la presenza di particelle magnetiche nell'eluito, è consigliabile fare una lettura di assorbanza a 320 nm e sottrarla ai valori di assorbanza ottenuti a 260 nm e 280 nm

Appendice A: messaggi sul display

I messaggi visualizzati dal protocollo del software durante la preparazione del piano di lavoro, durante l'esecuzione del protocollo e dopo l'esecuzione del protocollo sono elencati nelle Tabelle 6–9. I numeri dei messaggi elencati nelle tabelle corrispondono ai numeri di messaggi visualizzati dal software.

Per i messaggi di errore generici relativi allo strumento EZ1, vedi il manuale utente fornito con lo strumento EZ1.

Tabella 6. Messaggi visualizzati nel protocollo EZ1 Advanced XL DSP Blood

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL
Nessuno	Guida	Date/time ("Data/ora") START: Run ("esegui") 1: UV ("UV") 2: Man ("man") 3: Test ("test") 4: Setup ("setup")
1	Guida	EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Versione 1.0
2	Monitoraggio dati	Enter user ID ("Inserisci ID utente") ENT: Next ("avanti")
3	Monitoraggio dati	Enter Q-Card bar code ("Inserisci codice a barre Q-Card") ENT: Next ("avanti")
4	Guida	Wrong kit! ("Kit errato!") Please load DSP DNA Blood kit ("Carica kit DSP DNA Blood") ENT: Back ("indietro")
5	Guida	Kit expired! MMYY ("Kit scaduto MMAA"): ENT: Use new kit ("Usa nuovo kit") ESC: stop protocol ("stop protocollo")

6	Monitoraggio dati	Use Q-Card data with sample 1 to [X] ("Usa dati Q-Card con campione 1 - [X]") Enter 1 to 14 ("Inserisci 1 - 14") ENT: Next ("avanti")
---	-------------------	---

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 6. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL
7	Monitoraggio dati	Do you want to process more samples with another kit lot ("Si desidera elaborare più campioni con un altro lotto di kit") ENT: Yes ("si"), ESC: No ("no")
8	Monitoraggio dati	Do you want to add sample IDs? ("Si desidera aggiungere degli ID campione?") ENT: Yes ("si") ESC: No ("no")
9	Monitoraggio dati	Enter sample ID for sample no. [x] ("Inserisci ID campione per campione n. [x]") ENT: Next ("avanti")
10	Monitoraggio dati	Do you want to check sample IDs? ("Si desidera verificare gli ID campione?") ENT: Yes ("si") ESC: No ("no")
11	Monitoraggio dati	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next ("avanti")

12	Monitoraggio dati	ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: Next ("avanti"), UP: Back ("indietro")
13	Monitoraggio dati	ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: Next ("avanti"), UP: Back ("indietro")
14	Monitoraggio dati	ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Next ("avanti"), UP: Back ("indietro")

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 6. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL
15	Monitoraggio dati	ID 13: ID 14: ESC: Rescan ("ripeti la scansione") ENT: Next ("avanti"), UP: Back ("indietro")
16	Monitoraggio dati	Do you want to add assay information? ("Si desidera aggiungere informazioni sul test") ENT: Yes ("sì"), ESC: No ("no")
17	Monitoraggio dati	Enter assay ID for sample no.[X] ("Inserisci ID test per campione n. [x]") ENT: Next ("avanti")
18	Monitoraggio dati	Do you want to check assay IDs? ("Si desidera verificare gli ID test") ENT: Yes ("sì") ESC: No ("no")

19	Monitoraggio dati	Do you want to add notes? ("Si desidera aggiungere note?") ENT: Yes ("sì") ESC: No ("no")
20	Monitoraggio dati	Enter notes for sample no. [x] ("Inserisci note per campione n. [x]") ENT: Next ("avanti")
21	Monitoraggio dati	Do you want to check notes? ("Si desidera verificare le note?") ENT: Yes ("sì") ESC: No ("no")
22	Guida	Select protocol ("Seleziona protocollo") 1: 200ul DSP Blood 2: 350ul DSP Blood Choose 1 or 2 ("Scegli 1 o 2")

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 6. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL
23	Guida	Select elution volume ("Seleziona volume di eluizione"): 1: 50ul 2: 100ul 3: 200ul
24	Guida	Pure ethanol wash? ("Lavaggio con etanolo puro?") 1: No ("no") 2: Yes ("sì") Choose 1 or 2 ("Scegli 1 o 2")
25	Guida	You have chosen ("È stato selezionato"): [xxx]ul blood, EtOH ("[xxx]ul di sangue, EtOH") [xxx]ul elution ("[xxx]ul di eluizione") ENT: Next ("avanti"), ESC: Back ("indietro")

26	Guida	Load cartridges at same positions as samples ("Carica le cartucce nelle stesse posizioni dei campioni") ENT: Next ("avanti"), ESC: Back ("indietro")
27	Guida	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row ("Carica le provette di eluizione (1,5ml) (ET) nella prima fila") ENT: Next ("avanti"), ESC: Back ("indietro")
28	Guida	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ("Carica i porta-puntali (DTH) e i puntali (DFT) nella seconda fila") ENT: Next ("avanti"), ESC: Back ("indietro")
29	Guida	Load 2ml tubes with 1800ul 80% EtOH into third row ("Carica le provette da 2ml contenenti 1.800ul di 80% di EtOH nella terza fila") ENT: Next ("avanti"), ESC: Back ("indietro")
30	Guida	Load 2ml tubes (ST) with sample into fourth row ("Carica le provette da 2ml (ST) contenenti il campione nella quarta fila") ENT: Next ("avanti"), ESC: Back ("indietro")

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 6. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL
31	Guida	Loading finished ("Caricamento terminato") Close door and press START ("Chiudi lo sportello e premi START") ESC: Back ("indietro")

32	Guida	Please close door! ("Chiudi lo sportello!") ENT: Next ("avanti")
33	Stato	Protocol started ("Protocollo avviato")
34	Stato	Piercing foil ("Foglio per la perforazione") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
35	Stato	Collecting Elution Buffer ("Prelevamento tampone di eluizione") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
36	Stato	Deliver at heat block ("Invio al blocco riscaldante") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
37	Stato	Collecting Beads ("Prelevamento biglie") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
38	Stato	Resuspension of Beads ("Risospensione biglie") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
39	Stato	Collecting Lysis Buffer ("Prelevamento tampone di lisi") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
40	Stato	Mixing Lysate ("Miscela lisato") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 6. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL
----------------------	-------------------	--

41	Stato	Collecting Beads ("Prelevamento biglie") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
42	Stato	DNA binding to Beads Magnetic separation ("Legame DNA a biglie separazione magnetica") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
43	Stato	Wash 1 Magnetic separation ("Lavaggio 1 separazione magnetica") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
44	Stato	Wash 2 Magnetic separation ("Lavaggio 2 separazione magnetica") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
45	Stato	Wash 3 Magnetic separation ("Lavaggio 3 separazione magnetica") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
46	Stato	Wash 4 Magnetic separation ("Lavaggio 4 separazione magnetica") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
47	Stato	Rinse ("Risciacquo") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
48	Stato	Check Temp. ("Controlla temperatura") Set ("impostata"): Cur ("reale"): [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
49	Stato	Elution ("Eluizione") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
50	Guida	Protocol finished! ("Protocollo finito!") ENT: Next ("avanti")

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 6. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL
51	Stato	Transferring report file Attempt no. ("Trasferimento file di report tentativo n.")
52	Nessuno	
Nessuno	Guida	SEND REPORT ("INVIA FILE DI REPORT") Print out o.k.? ("Stampa o.k.?") 1: o.k. ("o.k.") 2: not o.k. ("non o.k.") ESC:Back ("indietro")
53	Stato	Report file sent ("File di report inviato") ENT: Next ("avanti")
54	Stato	Report file could not be sent ("Impossibile inviare il file di report") ENT: Resend ("ripeti invio")
55	Guida	Perform UV run? ("Esegui corsa UV?") ENT: Yes ("sì") ESC: No ("no")
56	Guida	Remove eluates and consumables from the worktable ("Rimuovi eluiti e materiali di consumo dal piano di lavoro") ENT: Next ("avanti")
57	Guida	UV lamps expire soon ("Lampade UV prossime alla scadenza") UV runs left ("Corse UV rimaste"): ENT: Next ("avanti")

58	Guida	UV lamps are expired ("Lampade UV scadute") ENT: Next ("avanti") ESC: Abort ("Interrompi")
59	Guida	UV decontamination ("Decontaminazione UV"). Enter 20 to 60 ("Inserisci 20-60") ENT: Next ("avanti")

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 6. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL
60	Guida	UV decontamination time must be between 20-60 min ("La durata della decontaminazione UV deve essere compresa tra 20-60 min") ESC: Back ("indietro")
61	Guida	UV lamp did not ignite! ("La lampada UV non si è accesa!") ESC: Back ("indietro")
62	Guida	UV decontamination ("Decontaminazione UV") Total time ("Durata totale"): min Time left ("Durata residua"): min
63	Stato	Decontamination ("Decontaminazione") UV lamps cooling ("Raffreddamento lampade UV") Please stand by ("Attendere")
64	Guida	Perform regular maintenance after each run ("Esegui manutenzione ordinaria dopo ogni corsa") ESC: Main menu ("menu principale")

Tabella 7. Messaggi visualizzati nel protocollo EZ1 Advanced DSP DNA Blood (V2.0)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced (protocollo V2.0)
Nessuno	Guida	Date/time ("Data/ora") START:Run ("esegui") 1:UV ("UV") 2:Man ("man") 3:Test ("test") 4:Setup ("setup") Key ("tasto"): START,1,2,3,4
1	Guida	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Versione 2.0
2	Monitoraggio dati	Enter user ID ("Inserisci ID utente") ENT: Next ("avanti")
3	Monitoraggio dati	Enter Q-Card bar code ("Inserisci codice a barre Q-Card") ENT: Next ("avanti")
4	Guida	Wrong kit! ("Kit errato!") Please load DSP DNA Blood kit ("Carica kit DSP DNA Blood") ENT: Back ("indietro")
5	Guida	Kit expired! ("Kit scaduto!") MMYY ("MMAA"): ENT: Use new kit ("Usa nuovo kit") ESC: Stop protocol ("stop protocollo")
6	Monitoraggio dati	Use Q-Card data with sample 1 to [X] ("Usa dati Q-Card con campione 1 - [X]") Enter 1 to 6 ("Inserisci 1 - 6") ENT: Next ("avanti")
7	Monitoraggio dati	Do you want to process more samples with another kit lot ("Si desidera elaborare più campioni con un altro lotto di kit") ENT: Yes ("sì"), ESC: No ("no")

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 7. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced (protocollo V2.0)
8	Monitoraggio dati	Do you want to add sample IDs? ("Si desidera aggiungere degli ID campione?") ENT: Yes ("si") ESC: No ("no")
9	Monitoraggio dati	Enter sample ID for sample no. [x] ("Inserisci ID campione per campione n. [x]") ENT: Next ("avanti")
10	Monitoraggio dati	Do you want to check sample IDs? ("Si desidera verificare gli ID campione?") ENT: Yes ("si") ESC: No ("no")
11	Monitoraggio dati	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next ("avanti")
12	Monitoraggio dati	ID 4: ID 5: ID 6: ENT:Next ("avanti"); Esc:Rescan ("ripeti la scansione")
13	Nessuno	
14	Nessuno	
15	Nessuno	
16	Monitoraggio dati	Do you want to add assay information? ("Si desidera aggiungere informazioni sul test") ENT: Yes ("si"), ESC: No ("no")

17	Monitoraggio dati	Enter assay ID for sample no.[X] ("Inserisci ID test per campione n. [x]") ENT: Next ("avanti")
----	-------------------	--

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 7. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced (protocollo V2.0)
18	Monitoraggio dati	Do you want to check assay IDs? ("Si desidera verificare gli ID test") ENT: Yes ("si") ESC: No ("no")
19	Monitoraggio dati	Do you want to add notes? ("Si desidera aggiungere note?") ENT: Yes ("si") ESC: No ("no")
20	Monitoraggio dati	Enter notes for sample no. [x] ("Inserisci note per campione n. [x]") ENT: Next ("avanti")
21	Monitoraggio dati	Do you want to check notes? ("Si desidera verificare le note?") ENT: Yes ("si") ESC: No ("no")
22	Guida	Select protocol ("Seleziona protocollo") 1: 200ul DSP Blood 2: 350ul DSP Blood Choose 1 or 2 ("Scegli 1 o 2")
23	Guida	Select elution volume ("Seleziona volume di eluizione"): 1: 50ul 2: 100ul 3: 200ul

24	Guida	Pure ethanol wash? ("Lavaggio con etanolo puro?") 1: No ("no") 2: Yes ("sì") Choose 1 or 2 ("Scegli 1 o 2")
25	Guida	You have chosen ("È stato selezionato"): [xxx]ul blood, EtOH ("[xxx]ul di sangue, EtOH") [xxx]ul elution ("[xxx]ul di eluizione") ENT: Next ("avanti"), ESC: Back ("indietro")

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 7. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced (protocollo V2.0)
26	Guida	Load cartridges at same positions as samples ("Carica le cartucce nelle stesse posizioni dei campioni") ENT: Next ("avanti"), ESC: Back ("indietro")
27	Guida	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row ("Carica le provette di eluizione (1,5ml) (ET) nella prima fila") ENT: Next ("avanti"), ESC: Back ("indietro")
28	Guida	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ("Carica i porta-puntali (DTH) e i puntali (DFT) nella seconda fila") ENT: Next ("avanti"), ESC: Back ("indietro")
29	Guida	Load 2ml tubes with 1800ul 80% EtOH into third row ("Carica le provette da 2ml contenenti 1.800ul di 80% di EtOH nella terza fila") ENT: Next ("avanti"), ESC: Back ("indietro")

30	Guida	Load 2ml tubes (ST) with sample into fourth row ("Carica le provette da 2ml (ST) contenenti il campione nella quarta fila") ENT: Next ("avanti"), ESC: Back ("indietro")
31	Guida	Loading finished ("Caricamento terminato") Close door and press START ("Chiudi lo sportello e premi START") ESC: Back ("indietro")
32	Guida	Please close door! ("Chiudi lo sportello!") ENT: Next ("avanti")
33	Stato	Protocol started ("Protocollo avviato")
34	Stato	Piercing foil ("Foglio per la perforazione") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 7. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced (protocollo V2.0)
35	Stato	Collecting Elution Buffer ("Prelevamento tampone di eluizione") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
36	Stato	Deliver at heat block ("Invio al blocco riscaldante") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
37	Stato	Collecting Beads ("Prelevamento biglie") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
38	Stato	Resuspension of Beads ("Risospensione biglie") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")

39	Stato	Collecting Lysis Buffer ("Prelevamento tampone di lisi") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
40	Stato	Mixing Lysate ("Miscela lisato") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
41	Stato	Collecting Beads ("Prelevamento biglie") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
42	Stato	DNA binding to Beads Magnetic separation ("Legame DNA a biglie separazione magnetica") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
43	Stato	Wash 1 Magnetic separation ("Lavaggio 1 separazione magnetica") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
44	Stato	Wash 2 Magnetic separation ("Lavaggio 2 separazione magnetica") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 7. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced (protocollo V2.0)
45	Stato	Wash 3 Magnetic separation ("Lavaggio 3 separazione magnetica") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
46	Stato	Wash 4 Magnetic separation ("Lavaggio 4 separazione magnetica") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")

47	Stato	Rinse ("Risciacquo") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
48	Stato	Check Temp. ("Controlla temperatura") Set ("impostata"): Cur ("reale"): [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
49	Stato	Elution ("Eluizione") [x] of [x] min left ("[x] di [x] min rimasti")
50	Guida	Protocol finished! ("Protocollo finito!") ENT: Next ("avanti")
51	Stato	Transferring report file Attempt no. ("Trasferimento file di report tentativo n.")
52	Nessuno	
Nessuno	Guida	INVIA REPORT ("INVIA FILE DI REPORT") stampa o.k.? ("Stampa o.k.?") 1=o.k. ("o.k.") 2=not o.k ("non o.k.") Key ("tasto"): 1, 2, ESC
53	Stato	Report file sent ("File di report inviato") ENT: Next ("avanti")
54	Stato	Report file could not be sent ("Impossibile inviare il file di report") ENT: Resend ("ripeti invio")

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 7. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced (protocollo V2.0)
----------------------------	----------------------	--

55	Guida	Perform UV run? ("Esegui corsa UV?") ENT: Yes ("sì") ESC: No ("no")
56	Guida	Remove eluates and consumables from the worktable ("Rimuovi eluiti e materiali di consumo dal piano di lavoro") ENT: Next ("avanti")
57	Guida	UV lamps expire soon ("Lampade UV prossime alla scadenza") UV runs left ("Corse UV rimaste"): ENT: Next ("avanti")
58	Guida	UV lamps are expired ("Lampade UV scadute") ENT: Next ("avanti") ESC: Abort ("Interrompi")
59	Guida	UV decontamination ("Decontaminazione UV"). Enter 20 to 60 ("Inserisci 20-60") ENT: Next ("avanti")
60	Guida	UV decontamination time must be between 20-60 min ("La durata della decontaminazione UV deve essere compresa tra 20-60 min") ESC: Back ("indietro")
61	Guida	UV lamp did not ignite! ("La lampada UV non si è accesa!") ESC: Back ("indietro")
62	Guida	UV decontamination ("Decontaminazione UV") Total time ("Durata totale"): min Time left ("Durata residua"): min

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 7. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced (protocollo V2.0)
63	Stato	Decontamination ("Decontaminazione") UV lamps cooling ("Raffreddamento lampade UV") Please stand by ("Attendere")
64	Guida	Perform regular maintenance after each run ("Esegui manutenzione ordinaria dopo ogni corsa") ESC: Main menu ("menu principale")

Tabella 8. Messaggi visualizzati nel protocollo EZ1 Advanced DSP DNA Blood (V1.0)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced (protocollo V1.0)
Nessuno	Guida	Date/Time ("Data/ora") START: Run ("esegui") 1: UV ("UV") 2: Man ("man") 3: Test ("test") 4: Setup ("setup") Key ("tasto"): START, 1, 2, 3, 4
1	Guida	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Versione 1.0
2	Monitoraggio dati	Scan/enter user ID ("Scansiona/inserisci ID utente")
3	Monitoraggio dati	Scan/enter Q-Card bar code ("Scansiona/inserisci codice a barre Q-Card")
4	Guida	Wrong kit! ("Kit errato!") Please load EZ1 DSP DNA Blood ("Carica EZ1 DSP DNA Blood") ENT: back ("indietro")
5	Guida	Kit expired ("Kit scaduto") ENT: Use new kit ("Usa nuovo kit") ESC: Stop protocol ("stop protocollo")
6	Monitoraggio dati	Use Q-Card data with sample no. 1 to ("Usa dati Q-Card con campione n. 1") Enter 1 to 6 ("Inserisci 1 - 6")
7	Guida	Do you want to process more samples with another kit lot ("Si desidera elaborare più campioni con un altro lotto di kit") ENT: Yes ("si"), ESC: No ("no")
8	Monitoraggio dati	Do you want to add sample ID? ("Si desidera aggiungere un ID campione?") ENT: Yes ("si") ESC: No ("no")

9	Monitoraggio dati	Scan/enter sample ID sample no. [x] ("Scansiona/inserisci ID campione campione n. [x]")
---	-------------------	--

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 8. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced (protocollo V1.0)
10	Monitoraggio dati	ID1: ID2: ID3: Next ("avanti")=ENT
11	Monitoraggio dati	ID1: ID2: ID3: Next ("avanti")=ENT, ID1-3=Up
12	Monitoraggio dati	Do you want to add assay information? ("Si desidera aggiungere informazioni sul test?") ENT: Yes ("si"), ESC: No ("no")
13	Monitoraggio dati	Scan/enter assay ID sample no. [x] ("Scansiona/inserisci ID test campione n. [x]")
14	Monitoraggio dati	Do you want to add notes? ("Si desidera aggiungere note?") ENT: Yes ("si") ESC: No ("no")
15	Monitoraggio dati	Scan/enter notes sample no. [x] ("Scansiona/inserisci note campione n. [x]")
16	Guida	The protocol use ("Il protocollo prevede") Sample Volume ("volume del campione"): 350ul Elution Volume ("volume di eluizione"): 200ul Next=Any ("avanti=qualsiasi")

17	Guida	Load cartridges at same positions as samples ("Carica le cartucce nelle stesse posizioni dei campioni") Next=Any ("avanti=qualsiasi"), Prev=Esc ("indietro=Esc")
18	Guida	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row ("Carica le provette di eluizione (1,5ml) (ET) nella prima fila") Next=Any ("avanti=qualsiasi"), Prev=Esc ("indietro=Esc")
19	Guida	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ("Carica i porta-puntali (DTH) e i puntali (DFT) nella seconda fila") Next=Any ("avanti=qualsiasi"), Prev=Esc ("indietro=Esc")
20	Guida	Leave third row empty ("Lascia vuota la terza fila") Next=Any ("avanti=qualsiasi"), Prev=Esc ("indietro=Esc")

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 8. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced (protocollo V1.0)
21	Guida	Load 2.0 ml tubes (ST) with sample in fourth row ("Carica le provette da 2,0 ml contenenti il campione nella quarta fila") Next=Any ("avanti=qualsiasi"), Prev=Esc ("indietro=Esc")
22	Guida	Caricamento terminato ("Caricamento terminato"). Close door and press START ("Chiudi lo sportello e premi START") Prev=Esc ("indietro=Esc")
23	Guida	Please close door! ("Chiudi lo sportello!")
24	Stato	Protocol started ("Protocollo avviato")

25	Stato	Piercing Foil ("Foglio per la perforazione") [x] of 23 min left ("[x] di 43 min rimasti")
26	Stato	Collecting Elution Buffer ("Prelevamento tampone di eluizione") [x] of 23 min left ("[x] di 43 min rimasti")
27	Stato	Deliver at Heat Block ("Invio al blocco riscaldante") [x] of 23 min left ("[x] di 43 min rimasti")
28	Stato	Collecting Magnetic Beads ("Prelevamento biglie magnetiche") [x] of 23 min left ("[x] di 43 min rimasti")
29	Stato	Resuspension of Magnetic Beads ("Risospensione biglie magnetiche") [x] of 23 min left ("[x] di 43 min rimasti")
30	Stato	Adding Lysis Buffer ("Aggiunta tampone di lisi") [x] of 23 min left ("[x] di 43 min rimasti")
31	Stato	Mixing Lysate ("Miscela lisato") [x] of 23 min left ("[x] di 43 min rimasti")
32	Stato	Adding Magnetic Beads ("Aggiunta biglie magnetiche") [x] of 23 min left ("[x] di 43 min rimasti")
33	Stato	DNA binding to Magnetic Beads ("Legame DNA a biglie magnetiche") Magnetic separation ("Separazione magnetica") [x] of 23 min left ("[x] di 43 min rimasti")

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 8. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced (protocollo V1.0)
----------------------	-------------------	---

34	Stato	Wash 1 ("Lavaggio 1") Magnetic separation ("Separazione magnetica") [x] of 23 min left ("[x] di 43 min rimasti")
35	Stato	Wash 2 ("Lavaggio 2") Magnetic separation ("Separazione magnetica") [x] of 23 min left ("[x] di 43 min rimasti")
36	Stato	Wash 3 ("Lavaggio 3") Magnetic separation ("Separazione magnetica") [x] of 23 min left ("[x] di 43 min rimasti")
37	Stato	Wash 4 ("Lavaggio 4") Magnetic separation ("Separazione magnetica") [x] of 23 min left ("[x] di 43 min rimasti")
38	Stato	Rinse ("Risciacquo") [x] of 23 min left ("[x] di 43 min rimasti")
39	Stato	Checking Temperature ("Controllo temperatura") Set ("impostata"): Cur ("reale"):
40	Stato	Elution ("Eluizione") [x] of 23 min left ("[x] di 43 min rimasti")
41	Guida	Protocol finished ("Protocollo finito")
42	Monitoraggio dati	Transfer Report file, attempt no. ("Trasferisci file di report, tentativo n.")
43	Guida	Report file sent ("File di report inviato") Next ("avanti")=ENT
44	Guida	Report file could not be sent ("Impossibile inviare il file di report") Resend ("Ripeti invio")=ENT

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 8. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced (protocollo V1.0)
45	Guida	Perform UV run? ("Esegui corsa UV?") ENT: Yes ("sì") ESC: No ("no")
46	Guida	UV DECONTAMINATION ("DECONTAMINAZIONE UV") Set time ("Imposta durata") min Key ("Tasto"):0-9, ENT
47	Guida	UV lamp expires soon ("Lampada UV prossima alla scadenza") UV runs left ("Corse UV rimaste") ENT= continue ("continua")
48	Guida	UV lamp is expired ("Lampada UV scaduta") ENT=continue ("continua") ESC=abort ("interrompi")
49	Guida	UV DECONTAMINATION ("DECONTAMINAZIONE UV") Time must be between 20-60 min ("La durata deve essere compresa tra 20-60 min") Key ("Tasto"):ESC
50	Guida	UV DECONTAMINATION ("DECONTAMINAZIONE UV") Total Time ("Durata totale"): min Time left ("Durata residua"): min
51	Guida	Decontamination UV lamp cooling ("Decontaminazione raffreddamento lampada UV") Please stand by ("Attendere")
52	Guida	Perform regular maintenance before next run! ("Esegui manutenzione ordinaria prima della prossima corsa") ESC=Main menu ("menu principale")

Tabella 9. Messaggi visualizzati nel protocollo BioRobot EZ1 DSP DNA Blood

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di BioRobot EZ1 DSP
Nessuno	Guida	Choose button ("Seleziona il pulsante"): START: Protocols ("protocolli") 1: Tools ("strumenti") 2: Tests ("test")
1	Guida	EZ1 DSP DNA Blood Versione 1.0.0
2	Guida	The protocol uses ("Il protocollo prevede") Sample Volume ("volume del campione"): [SampleVolume]ul ("[VolumeCampione]ul") Elution Volume ("volume di eluizione"): [ElutionVolume]ul ("[VolumeEluizione]ul") Next=Any ("avanti=qualsiasi")
3	Guida	Load sufficient cartridges (RCB) for samples ("Carica cartucce sufficienti (RCB) per i campioni") Next=Any, Prev=ESC ("avanti=qualsiasi, indietro=Esc")
4	Guida	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row ("Carica le provette di eluizione (1,5ml) (ET) nella prima fila") Next=Any ("avanti=qualsiasi"), Prev=Esc ("indietro=Esc")
5	Guida	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ("Carica i porta-puntali (DTH) e i puntali (DFT) nella seconda fila") Next=Any, Prev=ESC ("avanti=qualsiasi, indietro=Esc")
6	Guida	Leave third row Empty ("Lascia vuota la terza fila") Next=Any, Prev=ESC ("avanti=qualsiasi, indietro=Esc")

7	Guida	Load 2.0ml tubes (ST) with sample in fourth row ("Carica le provette da 2,0 ml contenenti il campione nella quarta fila") Next=Any, Prev=ESC ("avanti=qualsiasi, indietro=Esc")
8	Guida	Start protocol ("Avvia protocollo") Press START ("Premi START") Prev=ESC ("indietro=ESC")
9	Stato	Protocol started ("Protocollo avviato")
10	Stato	Piercing Foil ("Foglio per la perforazione")
11	Stato	Collecting Elution Buffer ("Prelevamento tampone di eluizione")
12	Stato	Deliver at Heat Block ("Invio al blocco riscaldante")
13	Stato	Collecting Magnetic Beads ("Prelevamento biglie magnetiche")
14	Stato	Resuspension of Magnetic Beads ("Risospensione biglie magnetiche")

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 9. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di BioRobot EZ1 DSP
15	Stato	Adding Lysis Buffer ("Aggiunta tampone di lisi")
16	Stato	Mixing Lysate ("Miscela lisato")
17	Stato	Adding Magnetic Beads ("Aggiunta biglie magnetiche")
18	Stato	DNA binding to Magnetic Beads ("Legame DNA a biglie magnetiche") Magnetic Separation ("Separazione magnetica")
19	Stato	Wash 1 Magnetic Separation ("Lavaggio 1 separazione magnetica")

20	Stato	Wash 2 Magnetic Separation ("Lavaggio 2 separazione magnetica")
21	Stato	Wash 3 Magnetic Separation ("Lavaggio 3 separazione magnetica")
22	Stato	Wash 4 Magnetic Separation ("Lavaggio 4 separazione magnetica")
23	Stato	Rinse ("Risciacquo")
24	Stato	Checking Temperature ("Controllo temperatura") Set ("impostata"): 65 [°] Cur ("reale"): [°]
25	Stato	Elution ("Eluizione")
26	Guida	Protocol finished! ("Protocollo finito!") Press ESC to return to menu ("Premi ESC per tornare al menu")

Appendice B: conservazione, quantificazione e determinazione della purezza del DNA

Conservazione del DNA

Il DNA purificato può essere conservato a 2–8°C o a -20°C fino a 24 mesi. Per una conservazione più lunga, si raccomanda di conservare gli eluiti a -70°C.

Quantificazione del DNA

La concentrazione del DNA deve essere determinata misurando con uno spettrofotometro l'assorbanza a 260 nm (A_{260}). I valori di assorbanza a 260 nm devono rientrare in un intervallo compreso tra 0,1 e 1,0 per essere precisi. Un'assorbanza di 1 unità a 260 nm corrisponde a 50 μg di DNA per millilitro ($A_{260}=1 \rightarrow 50 \mu\text{g/ml}$). Usare un tampone di pH neutro (ad esempio, 10 mM Tris·Cl, * pH 7.0) per diluire i campioni e per calibrare lo spettrofotometro.† Il trascinarsi tra le particelle magnetiche nell'eluito può influire sul valore A_{260} , ma non dovrebbe incidere sul rendimento del DNA nelle applicazioni a valle. Se il DNA purificato deve essere analizzato mediante sequenziamento capillare fluorescente, la provetta contenente l'eluito andrebbe innanzi tutto applicata ad un apposito separatore magnetico e l'eluito dovrebbe essere trasferito in una provetta pulita (vedi in basso).

Per quantificare il DNA isolato con l'uso del sistema EZ1:

- applicare la provetta contenente il DNA ad un apposito separatore magnetico (ad esempio, QIAGEN 12 -Tube Magnet, num. cat. 36912) per 1 minuto. Qualora il separatore magnetico non fosse disponibile, centrifugare la provetta contenente il DNA per 1 minuto alla massima velocità in una microcentrifuga per rimuovere qualsiasi particella magnetica residua.
- al completamento della separazione, prelevare con attenzione 10-50 μl di DNA isolato e diluire con un volume finale di 100 μl in un tampone di pH neutro.
- misurare l'assorbanza a 320 nm e 260 nm. Sottrarre il valore di assorbanza ottenuto a 320 nm dal valore ottenuto a 260 nm per correggere la presenza delle particelle magnetiche.

Concentrazione del campione di DNA = $50 \mu\text{g/ml} \times (A_{260} - A_{320}) \times \text{fattore di diluizione}$

* Quando si opera con agenti chimici, indossare sempre un camice da laboratorio adeguato, guanti monouso e occhiali protettivi. Per ulteriori informazioni, consultare le rispettive schede di sicurezza (MSDS), disponibili presso il fornitore dei prodotti.

Quantità totale di DNA isolato = concentrazione x volume di campione in millilitri

Purezza del DNA

La purezza si stabilisce calcolando il rapporto di assorbanza corretta a 260 nm con l'assorbanza corretta a 280 nm, ad esempio $(A_{260} - A_{320}) / (A_{280} - A_{320})$. Il DNA puro ha un rapporto $A_{260} - A_{280}$ di 1,7-1,9. Usare un tampone di pH leggermente alcalino (ad esempio, 10 mM Tris·Cl, pH 7.5) per diluire i campioni e per calibrare lo spettrofotometro. * Sei campioni non vengono diluiti, usare l'acqua per calibrare lo spettrofotometro.

* Quando si opera con agenti chimici, indossare sempre un camice da laboratorio adeguato, guanti monouso e occhiali protettivi. Per ulteriori informazioni, consultare le rispettive schede di sicurezza (SDS), disponibili presso il fornitore dei prodotti.

Appendice C: scheda di campionamento da usare con il sistema EZ1 DSP DNA Blood

Questo modello di scheda di campionamento può essere utile per l'archiviazione quando si usa la procedura EZ1 DSP DNA Blood. Questa scheda può essere fotocopiata ed etichettata con le descrizioni dei campioni insieme ai dettagli della corsa.

Sistema EZ1 DSP DNA Blood

Data/ora: _____ **Numero di lotto del kit:** _____

Operatore: _____ **ID corsa:** _____

Numero seriale dello strumento: _____

Posizione sul piano di lavoro	ID campione	Materiale campione	RCB disponibile?	ST disponibile?	ET disponibile?	DTH con DFT disponibile?
1 (sinistra)						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						

13

14 (destra)

Appendice D: esempio di file di report di EZ1 Advanced

Questa appendice mostra un file di report tipico generato su EZ1 Advanced. I valori di ciascun parametro saranno differenti dal file di report generato dal proprio EZ1 Advanced. I file di report generati su EZ1 Advanced XL mostrano le stesse informazioni e si distinguono soltanto per il numero di canali.

File di report EZ1 Advanced:

N. seriale EZ1 Advanced:,"6987"

ID utente:,"555"

Versione firmware:,"V 1.0.0"

Data installazione strumento:,"05 Ott. 2007"

Manutenzione settimanale eseguita il:,"29 Lug. 2009"

Manutenzione annuale eseguita il:,"24 Mar. 2009"

Data ultima corsa UV:,"31 Mar. 2009"

Inizio ultima corsa UV:,"10:59"

Fine ultima corsa UV:,"10:59"

Stato ultima corsa UV:,"o.k."

Nome protocollo:,"DSP DNA Blood Versione 2.0"

,"DSP DNA Blood 350"

Data corsa:,"05 Ago. 2009"

Inizio corsa:,"07:58"

Fine corsa:,"08:28"

Stato corsa:,"o.k"

Codice di errore:,"---"

Volume campione immesso [ul]:," 350"

Volume di eluizione [ul]:," 200"

Canale A:

ID campione:,"1"

Numero kit reagente:,"9900801"

Numero lotto reagente:,"0133203571"

Data scadenza reagente:,"1209"

ID kit test:,"1"

Nota:,"1"

Canale B:

ID campione:,"2"

Numero kit reagente:,"9900801"

Numero lotto reagente:,"0133203571"

Data scadenza reagente:,"1209"

ID kit test:,"2"

Nota:,"2"

Canale C:

ID campione:,"3"

Numero kit reagente:,"9900801"

Numero lotto reagente:,"0133203571"

Data scadenza reagente:,"1209"

ID kit test:,"3"

Nota:,"3"

Canale D:

ID campione:,"4"

Numero kit reagente:,"9900801"

Numero lotto reagente:,"0133203571"

Data scadenza reagente:,"1209"

ID kit test:,"4"

Nota:,"4"

Canale E:

ID campione:,"5"

Numero kit reagente:,"9900801"

Numero lotto reagente:,"0133203571"

Data scadenza reagente:,"1209"

ID kit test:,"5"

Nota:,"5"

Canale F:

ID campione:,"6"

Numero kit reagente:,"9900801"

Numero lotto reagente:,"0133203571"

Data scadenza reagente:,"1209"

ID kit test:,"6"

Nota:,"6"

[Checksum A0C47444]

Informazioni per l'ordine

Prodotto	Contenuto	N. cat.
Kit EZ1 DSP DNA Blood (48)	Per 48 prep. DNA: cartucce reagenti preriempite, porta-puntali monouso, puntali monouso con filtro, provette di campionamento, provette di eluizione	62124
Card EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood	Card preprogrammata per il protocollo EZ1 DSP DNA Blood; da utilizzare con lo strumento EZ1 Advanced XL	9018702
Card EZ1 Advanced DSP DNA Blood	Card preprogrammata per il protocollo EZ1 DSP DNA Blood; da utilizzare con lo strumento EZ1 Advanced	9018305
Card EZ1 DSP DNA Blood	Card preprogrammata per il protocollo EZ1 DSP DNA Blood; da utilizzare con lo strumento BioRobot EZ1 DSP	9017713
EZ1 Advanced XL	Strumento robotizzato per la purificazione automatica degli acidi nucleici da 14 campioni tramite i kit EZ1, garanzia di 1 anno sui componenti e sulla manodopera*	9001492

Per ottenere maggiori informazioni sulle tecnologie per test QIAGEN, visitate il sito www.qiagen.com/products/assays.

Per informazioni di licenza aggiornate o per le clausole di responsabilità specifiche del prodotto, fare riferimento al manuale del kit QIAGEN o al manuale utente. I manuali del kit QIAGEN e i manuali utente sono disponibili sul sito www.qiagen.com o possono essere richiesti al centro di assistenza tecnica QIAGEN o al distributore locale.

Questa pagina è stata lasciata in bianco intenzionalmente

Questa pagina è stata lasciata in bianco intenzionalmente

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

Contratto di licenza limitato

L'uso di questo prodotto implica l'accettazione da parte dell'acquirente o dell'utente del kit EZ1 DSP DNA Blood dei seguenti termini:

1. Il kit EZ1 DSP DNA Blood deve essere usato unicamente secondo le istruzioni contenute nel *Manuale del kit EZ1 DSP DNA Blood* e in combinazione con i componenti contenuti nel kit. QIAGEN non concede alcuna licenza, in relazione a qualunque proprietà intellettuale, per l'uso o l'aggiunta dei componenti del kit ad altri componenti non contenuti nel kit, ad eccezione di quanto descritto nel *Manuale del kit EZ1 DSP DNA Blood* e nei protocolli aggiuntivi disponibili sul sito www.qiagen.com.
2. Se non espressamente dichiarato nelle licenze, QIAGEN non garantisce in alcun modo che questo kit e/o il relativo impiego non violino i diritti di terze parti.
3. Il presente kit ed i relativi componenti sono concessi in licenza per l'impiego monouso e non possono essere riutilizzati, ripristinati o rivenduti.
4. QIAGEN esclude specificamente qualunque altra licenza, espressa o implicita, che non rientri tra quelle espressamente dichiarate.
5. L'acquirente e l'utente del kit concordano nel non consentire a nessuno di intervenire o consentire ad altri di realizzare o contribuire a realizzare azioni proibite. QIAGEN può imporre presso qualunque tribunale i divieti del presente Contratto di licenza limitato, e recupererà tutte le spese di investigazione e legali, comprese le parcelle degli avvocati, in qualunque azione per imporre il presente Contratto di licenza limitato o qualunque diritto di proprietà intellettuale correlato al kit e/o ai suoi componenti.

Per i termini di licenza aggiornati, consultare il sito www.qiagen.com.

Kit QuantiTect Probe PCR: NOTA PER L'ACQUIRENTE: LICENZA LIMITATA

Una licenza per eseguire un processo di nucleasi 5' a scopo di ricerca prevede l'uso di un kit 5' Nuclease con licenza (contenente la sonda concessa in licenza) oppure la combinazione di un kit 5' Nuclease Core autorizzato più la sonda concessa in licenza oppure diritti di licenza che possono essere acquistati da Applied Biosystems. Questo prodotto è un kit 5' Nuclease Core autorizzato senza sonda concessa in licenza. Il suo prezzo di vendita comprende un'immunità di giurisdizione limitata, non cedibile in riferimento ai n. di brevetto U.S. 5,210,015, 5,487,972, 5,476,774, e 5,219,727 e relative rivendicazioni brevettuali fuori dagli Stati Uniti, di proprietà di Roche Molecular Systems, Inc. o F. Hoffmann-La Roche Ltd (Roche), per l'uso esclusivamente di questa quantità di prodotto durante l'esecuzione del processo di nucleasi 5' a solo scopo di ricerca personale interna dell'acquirente, se usato in congiunzione con la sonda concessa in licenza. Questo prodotto è inoltre un kit 5' Nuclease Core autorizzato per l'uso con sublicenze di servizio disponibili presso Applied Biosystems. Questo prodotto non trasmette alcun diritto in riferimento ai n. di brevetto U.S. 5,804,375, 6,214,979, 5,538,848, 5,723,591, 5,876,930, 6,030,787, o 6,258,569, o relativi brevetti al di fuori degli Stati Uniti, sia espressamente che per implicazione o preclusione. Con la presente non viene concesso, sia espressamente che per implicazione o preclusione, nessun diritto in relazione a qualsivoglia altra rivendicazione brevettuale (quali le rivendicazioni dell'apparecchiatura o del sistema nel n. di brevetto U.S. 6,814,934) e nessun diritto a fornire servizi commerciali di qualsivoglia tipo, compresa senza alcuna limitazione la relazione dei risultati delle attività dell'acquirente a pagamento o qualsivoglia altra considerazione commerciale. Questo prodotto è a solo scopo di ricerca. Gli usi diagnostici necessitano di una licenza separata fornita da Roche. Maggiori informazioni sulle licenze d'acquisto sono disponibili contattando il direttore delle licenze, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA.

HB-0252-003 © 2009-2015 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

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)

