



Juli 2024

Produktark

Settet QIAcuityDx[®] Universal MasterMix

Versjon 1

IVD

Til in vitro-diagnostikk

Til laboratoriebruk



REF

260101, 260102



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

R1

MAT

1134829NB

Sample to Insight

Innholdsfortegnelse

Settets innhold	3
Transport og oppbevaring	4
Stabilitet under bruk	4
Bruksområde	5
Virkestoffer	5
Symboler	6
Sikkerhetsinformasjon	8
Universal MasterMix	9
Informasjon ved nødstilfeller	9
Beskrivelse og prinsipp	10
Merknader før du starter	11
Prosedyre	13
Avfallshåndtering	17
Kvalitetskontroll	18
Begrensninger	19
Feilsøking	20
Bestillingsinformasjon	23
Revisjonshistorikk for dokument	24

Settets innhold

Kat.nr. Sett	260101 1 ml	260102 5 ml
QIAcuityDx Universal MasterMix	1 × 1180 µl	5 × 1180 µl
MgCl ₂ , 200mM (MgCl ₂ , 200 mm)	1 × 1000 µl	2 × 1000 µl
RNase-free water	2 × 1,9 ml	5 × 1,9 ml

Transport og oppbevaring

Settet QIAcuityDx Universal MasterMix fraktes på tørris. Det må lagres umiddelbart etter mottak ved -30 til -15 °C i en fryser med konstant temperatur. Hvis en av komponentene i settet QIAcuityDx Universal MasterMix ikke er frosset ved ankomst, hvis den utvendige emballasjen har blitt åpnet under frakt, eller hvis forsendelsen ikke inneholder en pakkseddel eller reagenser, må du kontakte QIAGENs tekniske serviceavdeling eller lokale distributører (se www.qiagen.com).

Når det oppbevares riktig, er settet QIAcuityDx Universal MasterMix stabilt fram til utløpsdatoen som er trykt på etiketten.

Må ikke brukes hvis den ikke er lagret i samsvar med spesifikasjonene, hvis emballasjen har blitt skadet, eller hvis andre tegn på forringelse eller funksjonsfeil er synlige.

Stabilitet under bruk

Når reagenser først er åpnet, kan de oppbevares i originalemballasjen ved -30 til -15 °C frem til utløpsdatoen på emballasjen. Gjentatt tining og frysing bør unngås. Maks. fem fryse-tine-sykluser kan utføres.

Reagensene må tines helt ved romtemperatur (15 – 25 °C) maksimalt 30 minutter før bruk.

Bruksområde

Settet QIAcuityDx Universal MasterMix er et klart til bruk, dPCR Master mix-reagenssett for generell bruk for bruk med QIAcuityDx Four-instrumentet, sammen med analysespesifikke reagenser som en del av validerte diagnostiske testprosedyrer.

Settet QIAcuityDx Universal MasterMix er ikke en automatisert enhet og er beregnet for laboratoriebruk av opplært personell.

Settet QIAcuityDx Universal MasterMix er beregnet på bruk i *in vitro*-diagnostikk.













Det er brukerens ansvar å validere systemets ytelse for andre prosedyrer som brukes i laboratoriet, og som ikke dekkes av QIAGEN-undersøkelser av ytelse.

Virkestoffer

Reagens	Navn	Virkestoff	Konsentrasjon (% v/w)
Master mix	QIAcuityDx Universal MasterMix	QuantiNova® DNA-polymerase (5,6 U/µl)	12 %
		dNTP-miks (10 mm hver)	10 %
Magnesiumklorid	MgCl ₂ , 200 mm	Ingen	–
Vann	RNase-fritt vann	Ingen	–

Symboler

Følgende symboler kan vises i bruksanvisningen eller på emballasjen og merkingen:

	Dette produktet oppfyller kravene i den europeiske bestemmelsen (EU) 2017/746 for in vitro-diagnostiske medisinske enheter (IVDR).
	In vitro-diagnostisk medisinsk enhet
	Katalognummer
	Materialnummer
	Partinummer
	Globalt handelsnummer
	Entydig utstyrsidentifikator
	Inneholder
	Komponent
	Antall
	Produksjonsdato
Rn	R står for revisjon av produktark, og n er revisjonsnummeret
Vn	V står for versjonen av produktarket og n er versjonsnummeret
	Skal brukes innen



Temperaturbegrensninger



Juridisk produsent



Se bruksanvisningen



<N>

Inneholder reagenser som er tilstrekkelig til <N> reaksjoner



Skal beskyttes mot lys



Advarsel



Helsefare

Sikkerhetsinformasjon

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller under arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablad (SDS) hvis du ønsker mer informasjon. Disse er tilgjengelige i et praktisk og kompakt PDF-format online på www.qiagen.com/safety. Her kan du se, vise og skrive ut SDS for hvert QIAGEN®-sett og hver settkomponent.

Vær oppmerksom på at alvorlige hendelser i forbindelse med bruken av utstyret muligens må rapporteres til produsenten og den ansvarlige myndigheten i det landet hvor brukeren og/eller pasienten befinner seg.

Prøver er potensielt smittsomme. Kast prøve- og analyseavfall i henhold til lokale sikkerhetsprosedyrer.

Settet QIAcuityDx Universal MasterMix inneholder QuantiNova DNA-polymerase, som produseres med en prosess med bakteriell fermentering. Enzymet renses fra mikrobene ved slutten av behandlingen for å fjerne eventuelle gjenværende kilder til potensielt smittefarlig materiale.

Universal MasterMix



Inneholder: 2-metylisotiazol-3(2H)-on, 1,2,4-triazol. Kan utløse en allergisk hudreaksjon. Kan skade forplantningsevnen eller gi fosterskader. Innhent særskilt instruks før bruk. Må ikke håndteres før alle sikkerhetsreglene er lest og forstått. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm. Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Få råd fra / oppsøk lege. Oppbevares innelåst. Innhold/holder leveres til et godkjent avfallsbehandlingssted.

Informasjon ved nødstilfeller

CHEMTREC

USA og Canada: 1-800-424-9300

Utenfor USA og Canada: +1 703-527-3887

Beskrivelse og prinsipp

Settet QIAcuityDx Universal MasterMix består av en bruksklar dPCR Master Mix som inneholder reaksjonskjemi i PCR-buffer og proprietært referansefargestoff, og separate rør med 200 mM magnesiumklorid (MgCl_2) 100 % v/w og RNase-fritt vann 100 % v/w.

En fullstendig liste over materialer som skal brukes med settet QIAcuityDx Universal MasterMix finnes i *brukerveiledningen til QIAcuityDx-systemet*.

Denne protokollen er optimalisert for kvantifisering av DNA- eller cDNA-mål ved bruk av settet QIAcuityDx Universal MasterMix med TaqMan[®]-prober i en enkeltpleks- eller multipleksreaksjon, ved bruk av QIAcuityDx-systemet.

Merknader før du starter

- Et fluorescerende fargestoff leveres som en komponent i settet QIAcuityDx Universal MasterMix for pålitelig deteksjon av riktig partisjonsfylling i QIAcuityDx-kompatible nanoplater.
- For høyest effektivitet for dPCR-analyse ved bruk av TaqMan-prober, bør amplikoner ideelt sett være 60–150 bp lange. I likhet med qPCR kan lengre amplikoner også brukes, men analyseytelsen kan svekkes.
- Før du utfører multipleksanalyser, velg passende kombinasjoner av reporterfargestoffer og slukkere som er compatible med multipleksanalyser, ved å bruke deteksjonsoptikken til QIAcuityDx Four-instrumentet (se Tabell 1).

Viktig: En integrert krysstalekorreksjon brukes på bilder generert av QIAcuityDx Four-instrumentet. Denne korreksjonen er for å minimere effekten av spektral overlapping mellom nabooptiske kanaler og fluoroforer. Bruk av ikke-støttede fargestoffer kan resultere i suboptimal krysstalekorreksjon.

Tabell 1. Optiske kanaler og støttede fluoroforer for QIAcuityDx Four-instrumentet

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

- Ikke-fluorescerende slukkere bør brukes med hver probe. Dobbel slukkeprober kan brukes for å forbedre signal-til-støy-forhold i visse analyser.

- Det anbefales å starte analyseutviklingen med syklusforholdene og primerkonsentrasjonene spesifisert i denne protokollen. PCR-syklusforholdene må starte med et innledende inkubasjonstrinn på to minutter ved 95 °C for å aktivere QuantiNova DNA-polymerase i settet QIAcuityDx Universal MasterMix.
- For enkel bruk anbefaler vi at du forbereder en 10 x eller høyere konsentrasjon av primer-probeblending som inneholder målspesifikke primere og probe for hvert av målene dine. En 10 x primer-probeblending består av 1–8 µm foroverprimer, 1–8 µm bakoverprimer og 0,5–4 µm probe i TE-buffert med lav EDTA (0,1 mM).
- DNA-templat med en gjennomsnittlig lengde på >30 kb må kanskje fragmenteres ved restriksjonsfordøyelse før partisjonering. Enzymatisk fragmentering av større DNA sikrer jevn fordeling av templat gjennom den QIAcuityDx-kompatible nanoplaten, som igjen sikrer nøyaktig og presis kvantifisering. Restriksjonsfordøyelse er ikke nødvendig for sterkt fragmentert DNA (f.eks. FFPE DNA eller sirkulerende DNA) eller cDNA. Det bør utvises forsiktighet ved bruk av enzymer som ikke vil kutte innenfor den amplifiserte sekvensen, derfor anbefales restriksjonsenzymer.
- Prøveinndatamengder bør være basert på nanoplate-partisjonsnumrene, med en øvre grense på 5 kopier per partisjon, ved bruk av TaqMan-probebasert deteksjon (Tabell 2). Det ideelle utvalget av kopier/partisjoner er mellom 0,5–3. Hvis kopitallet ikke kan bestemmes før starten av eksperimentet, anbefales det å utføre et innledende titreringseksperiment for å finne den optimale prøveinngangsmengden.

Tabell 2. Maksimalt kopiantall per reaksjon per platetype

Platetype	Antall partisjoner	Øvre grense for kopier per reaksjon	Analysert volum (µl)	Totalt reaksjonsvolum (µl)	Maks. kopiantall per analysert volum	Beregnet maks. kopinummer per reaksjon
8,5 k nanoplater	8 500	5	2,9	13	42 500	170 000
26 k nanoplater	26 000	5	24,0	42	130 000	217 000

Prosedyre

1. Tin QIAcuityDx Universal MasterMix, magnesiumklorid, templat-DNA eller cDNA, primer-probeblandning og RNase-fritt vann ved romtemperatur i maksimalt 30 minutter.
2. Bland hver av løsningene ved å røre på full hastighet i 3–5 sekunder. Rørene bør sentrifugeres kort etter blanding for å samle opp væskene i bunnen av rørene.
3. Forbered en Master mix til analyse for antall nødvendige reaksjoner i henhold til Tabell 3, minus templat / No Template Control (NTC). Det er ikke nødvendig å ha prøver på is under reaksjonsoppsett eller påfølgende trinn.

Tabell 3. Anbefalt oppsett for Master mix til analyse

Komponent	Volum/well (24/96-well, 8,5 k nanoplater)	Volum/well (24-well, 26 k nanoplater)	Sluttkonsentrasjon
QIAcuityDx Universal Master mix	3,3 µl	11 µl	1 ×
MgCl ₂ , 200 mM	0,41 µl*	1,38 µl*	6,28 mM*
10 x primer-probeblending (per analyse)†	1,32 µl†	4,4 µl†	0,1–0,8 µM foroverprimer 0,1–0,8 µM bakoverprimer 0,05–0,4 µM probe
Restriksjonsenzym (valgfrøtt)	Opptil 1 µl	Opptil 1 µl	0,025–0,25 U/µl
RNase-fritt vann	Variable	Variable	
Templat-DNA eller cDNA (lagt til i trinn 5)	Variabel‡	Variabel‡	
Totalt	13,2 µl	44 µl	

*Anbefalt sterkonsentrasjon, volum kan variere avhengig av optimalisering.

†Volumet kan variere, avhengig av konsentrasjonen til primer-probeblendingen som brukes og den endelige målkonsentrasjonen.

‡Passende templat-mengder avhenger av ulike parametere, se merknader før start.

- Bland en Master mix ved å røre på full hastighet i 3–5 sekunder. Sentrifuger kort.
- Dispenser passende volumer av Master mix til analysen, som inneholder alle komponentene unntatt templat / No Template Control (NTC) i wellene på en standard PCR-plate eller lo-bind-rør. Tilsett deretter templat-DNA/NTC i hver well/rør med volumet som passer for analysen din (se Merknader før start).

Merk: For 2-trinns RT-PCR bør volumet av tilsatt cDNA (fra den ufortynnede reverstranskripsjonsreaksjonen) ikke overstige 15 % av det endelige PCR-volumet.

6. Bland underblandingen (Master mix til analyse og templat), enten i en PCR-plate ved å pipettere opp og ned 10 ganger i wellen, eller hvis den blandes i et rør, ved å røre på full hastighet i 3–5 sekunder. Sentrifuger platen/røret kort for å samle opp væsken i bunnen av wellen/røret.
7. Overfør innholdet i hver well/rør umiddelbart til wellene på nanoplaten.

Merk: Sørg for at det ikke dannes luftbobler under overføringen til nanoplaten ved å pipettere til første stopp. Sørg for å pipettere blandingen inn i inngangswellen og ikke utgangswellen. For å unngå å skade den optiske overflaten og for å redusere støv som vil forstyrre avbildning og analyse av resultater, anbefaler vi å plassere nanoplaten på et nanoplatebrett før reaksjonsblandingen pipetteres inn i nanoplaten. Nanoplatebrettet bør forhåndsrens med en lofri klut før bruk.

8. Forsegl nanoplatene ordentlig ved å bruke nanoplateforseglingen som følger med i platesettene.

Merk: For nøyaktig forseglingsprosedyre, se *bruksanvisningen for QIAcuityDx-systemet*.

9. Hvis et restriksjonsenzym for DNA-fordøyelse er inkludert i reaksjonen, la platen stå i 10 minutter i romtemperatur.

10. Programmer syklusen til QIAcuityDx Four-instrumentet i henhold til Tabell 4.

Tabell 4. Anbefalte dPCR-syklusforhold

Trinn	Klokkeslett	Temperatur (°C)	Antall sykluser
Første aktivering av PCR-oppvarming	2 min	95	1
Denaturering	15 s	95	40*
Kombinert hybridisering/forlengelse*	30 s*	60	

*Temperatur/tid/antall sykluser kan variere avhengig av analysetype

11. Plasser nanoplaten i QIAcuityDx Four-instrumentet og start dPCR-programmet i henhold til bruksanvisningen for QIAcuityDx-systemet.

Avfallshåndtering

Kast brukt og ubrukt produkt i samsvar med lokale og nasjonale forskrifter. Følg anbefalingene i sikkerhetsdatabladet (SDS).

Kvalitetskontroll

I henhold til QIAGENs ISO-sertifiserte kvalitetsstyringssystem, testes hvert parti med settet QIAcuityDx Universal MasterMix mot forhåndsbestemte spesifikasjoner for å sikre konsekvent produktkvalitet.

Begrensninger

Ytelsen til settet QIAcuityDx Universal MasterMix er etablert med de gjeldende nedstrøms QIAGEN-analysene. Se de respektive bruksanvisningene for den respektive QIAGEN nedstrømsapplikasjonen for detaljerte instruksjoner om håndtering av dette produktet, innenfor den tilsvarende arbeidsflyten.

Det er brukerens ansvar å validere systemets ytelse for eventuelle analyser som brukes i laboratoriet, som ikke dekkes av QIAGENS ytelsesstudier. For å redusere risikoen for negativ innvirkning på de diagnostiske resultatene skal det brukes egnede kontroller for nedstrømsapplikasjoner. For ytterligere validering anbefales retningslinjene fra *Den internasjonale konferanse om harmonisering av tekniske krav (ICH) i ICH Q2 (R1) Validering av analytiske prosedyrer: Tekst og metodologi* er anbefalt.

Settet QIAcuityDx Universal MasterMix er ikke produsert med sterile produksjonsprosedyrer, derfor kan den inneholde andre ingredienser som kan påvirke målingen. Nedstrømsapplikasjoner bør inkludere tilstrekkelige kontroller, hvis dette øker risikoen for en negativ innvirkning på det diagnostiske resultatet.

Feilsøking

Denne delen gir informasjon om hva du skal gjøre hvis det oppstår problemer med bruken av settet QIAcuityDx Universal MasterMix. Hvis du trenger ytterligere hjelp, kan du kontakte QIAGENs tekniske serviceavdeling ved hjelp av kontaktinformasjonen nedenfor, der du finner landspesifikke detaljer:

Nettside: support.qiagen.com

Problem	Kommentarer og forslag
NTC-amplifikasjon	
Analysedesign	Redesign primere/prober. Optimaliser analyseforholdene ved å variere primer-probekonsentrasjon og MgCl ₂ -konsentrasjon.
Forurensning i reagenser	Kast reagenser, gjenta analysen med nye reagenser.
Kontaminering i analyseoppsett.	Ta forholdsregler mot kontaminering ved å dekontaminere arbeidsområdet med egnede rengjøringsmidler.
Ingen amplifikasjon	
PCR-forhold ikke optimalisert	Øk den første denatureringstiden. Øk hybridisering-/forlengelsestiden.
Utilstrekkelig start-templat	Øk mengden/konsentrasjonen av start-templat som er lagt til Master mix til analysen.
Metningsflagg	
Overmetning av prober	Reduser eksponeringstiden i bildeparameterne. Reduser forsterkningen i bildeparameterne.
Utilstrekkelig separasjon mellom positive og negative klynger	
Analysedesign	Optimaliser analyseforholdene ved å variere primer-probekonsentrasjon og MgCl ₂ -konsentrasjon. Bytt til dobbel slukke-TaqMan-prober for å øke signal-til-støy-forholdet.
PCR-forhold ikke optimalisert	Øk den første denatureringstiden. Øk hybridisering-/forlengelsestiden.
Forskjeller observert i absolutte kvantifiseringsverdier mellom kjøring	
Utilstrekkelig tilsetning av QIAcuityDx Universal MasterMix	Sørg for at den endelige konsentrasjonen av QIAcuityDx Universal MasterMix i underblandingen er 1 x (fra 4 x stamløsningen).
Variasjon i tine-/oppsettetid	Forlengede tine-/oppsettider kan påvirke absolutte kvantifiseringsverdier negativt. For optimal ytelse bør reagenser tines i maksimalt 30 minutter, og når underblandingen (Master mix til analyse + templat) er klargjort, bør den umiddelbart legges på nanoplaten. Hvis det er nødvendig med utvidede tine-/oppsettider, bør disse beskyttes per analyse for å sikre at eventuelle endringer i absolutt kvantifisering ikke påvirker sluttresultatene.
PCR-forhold ikke optimalisert	Optimaliser denatureringstemperaturen. Optimaliser hybridisering-/forlengelsestemperaturen.

Problem

Kommentarer og forslag

Inksekvente resultater mellom nanoplateweller

PCR-forhold ikke optimalisert

Optimaliser aktiveringstiden ved å øke fra 2 minutter til 15 minutter.

Bestillingsinformasjon

Produkt	Innhold	Kat.nr.
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (1 mL)	For klargjøring av opptil fire QIAcuityDx nanoplater: 1 x QIAcuityDx Universal MasterMix, 1 x MgCl ₂ , 200 mm, 2 x RNase-fritt vann	260101
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (5 mL)	For klargjøring av opptil 20 QIAcuityDx nanoplater: 5 x QIAcuityDx Universal MasterMix, 2 x MgCl ₂ , 200 mm, 5 x RNase-fritt vann	260102

Alle forholds- og forsiktighetsregler må tas ved håndtering av produktene. Vi anbefaler alle brukere av QIAGEN®-produkter å følge gjeldende lokale forskrifter, og vi anbefaler også å følge gjeldende standarder og retningslinjer.

Revisjonshistorikk for dokument

Dato

Endringer

R1, juli 2024

Første versjon

Begrenset lisensavtale for settet QIAcuityDx® Universal MasterMix

Bruk av dette produktet innebærer at enhver kjøper eller bruker av produktet samtykker i følgende vilkår:

1. Produktet kan bare brukes i samsvar med protokollene som leveres med produktet og denne bruksanvisningen, og skal bare brukes med komponenter som er inkludert i panelet. QIAGEN gir ingen lisens for noen av sine åndsprodukter til å bruke eller innlemme komponenter i dette panelet med andre komponenter som ikke er inkludert i dette panelet, med unntak av det som er beskrevet i protokollene som leveres med produktet, denne bruksanvisningen og andre protokoller som er tilgjengelige på www.qiagen.com. Enkelte av disse ytterligere protokollene er levert av QIAGEN-brukere for QIAGEN-brukere. Disse protokollene er ikke blitt grundig testet eller optimalisert av QIAGEN. QIAGEN garanterer ikke for dem og gir heller ingen garanti for at de ikke krenker rettighetene til tredjeparter.
2. QIAGEN gir ingen garanti for at dette panelet og/eller dets bruk ikke krenker rettighetene til tredjeparter, bortsett fra uttrykkelig oppgitte lisenser.
3. Dette panelet og tilhørende komponenter er lisensiert til engangsbruk og kan ikke brukes flere ganger, modifiseres eller selges på nytt.
4. QIAGEN frasier seg spesifikt andre lisenser, uttrykt eller antydte, bortsett fra de som er uttrykkelig oppgitt.
5. Kjøperen og brukeren av panelet samtykker i at de ikke skal gjøre eller la noen andre gjøre noe som kan resultere i eller fremme handlinger som er forbudt ovenfor. QIAGEN kan håndheve forbud i denne begrensede lisensavtalen i en hvilken som helst domstol, og skal få tilbake alle sine etterforsknings- og domstolskostnader, inkludert advokathonorarer, knyttet til enhver handling som iverksettes for å håndheve denne begrensede lisensavtalen eller eventuelle immaterielle rettigheter forbundet med panelet og/eller komponentene.

Oppdaterte lisensvilkår er tilgjengelige på www.qiagen.com.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAcuityDx®, QuantiNova® (QIAGEN Group), Cy® (GE Healthcare), Taqman® (Roche Molecular Systems, Inc.), FAM™, HEX™, ROX™, TAMRA™, (Thermo Fisher Scientific eller dets datterselskaper). Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet skal ikke betraktes som ubeskyttet av lov, selv om de ikke spesifikt er merket som dette.

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

Denne siden skal være tom

Denne siden skal være tom

Denne siden skal være tom

