

CE

RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV

REF PG0004



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, 64297 Darmstadt, Tyskland \$\$+49 (0) 61 51 81 02-0 / \$\$+49 (0) 61 51 81 02-20 / \$\$\$ www.r-biopharm.com

1. Tilsigtet anvendelse

Til *in vitro*-diagnostisk anvendelse. RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV anvendes til farvekalibrering af 2-komplekse og højere RIDA[®]GENE real-time PCR kører på LightCycler[®] 480 II. RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV kan bruges til at generere en farvekompensationsfil for at muliggøre analyse af kvalitative og kvantitative 2-komplekse og højere RIDA[®]GENE real-time PCR -tests på LightCycler[®] 480 II.

Produktet er beregnet til professionel brug.

2. Oversigt og forklaring af testen

I en realtid PCR, det udsendte fluorescerende signal fra en fluorescerende reporter farvestof kan overlejre en tilstødende farvekanal, og dermed generere et signal (crosstalk). Crosstalk fra fluorescerende signaler kan forårsage forkerte resultater, medmindre en korrektion udføres af en farvekompensationsfil. En farvekompensationsfil kan kompensere for krydstale mellem farvekanalerne.

3. Testprincip

RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV anvendes til farvekalibrering af 2-komplekse og højere RIDA[®]GENE real-time PCR kører på LightCycler[®] 480 II.

4. Medfølgende reagenser

Tabel 1:Reagenser, der leveres (reagenserne i sættet er tilstrækkelige til
3 farvekompensationskørsler.)

Sætkode	Reagens	Ма	engde	Lågfarve
1	Blank	1 ×	400 µL	hvid, klar til brug
2	Dye 1	1 ×	400 µL	blå, klar til brug
3	Dye 2	1 ×	400 µL	grøn, klar til brug
4	Dye 3	1 ×	400 µL	gul, klar til brug
5	Dye 4	1 ×	400 µL	orange, klar til brug
6	Dye 5	1 ×	400 µL	rød, klar til brug

5. Opbevaringsanvisninger

- Følg retningslinjerne for håndtering i tabel 2, og opbevar sættet direkte efter brug i henhold til de angivne oplysninger.
- Alle reagenser skal opbevares ved -16 °C til -28 °C et mørkt sted og kan, hvis de ikke er åbnet, anvendes indtil udløbsdatoen på etiketten. Efter udløbsdatoen er kvalitetsgarantien ikke længere gyldig.
- Alle reagenser skal optøs omhyggeligt inden brug (f.eks. i et køleskab ved 2 8 °C).
- Gentagen frysning og optøning op til 3 gange påvirker ikke testegenskaberne.
- Alle reagenser afkøles korrekt under PCR-forberedelse (2 8 °C).

	Opbevaringstemperatur	Maksimal opbevaringstid
uåbnet	-16 °C til -28 °C	Kan bruges indtil den trykte udløbsdato
åbnet	-16 °C til -28 °C	3 optønings-/nedfrysningscyklusser

Tabel 2:Opbevaringsforhold og oplysninger

6. Nødvendige materialer, som ikke følger med

6.1 Reagenser

Ingen.

6.2 Laboratorieudstyr

Følgende udstyr er nødvendigt for at udføre RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV testen:

Udstyr
Realtids-PCR-instrument: LightCycler [®] 480 II (Roche)
Realtids-PCR-materialer (plader (lav profil, hvide brønde, klar ramme), reaktionshætteglas, folier)
Centrifuge med rotor til plader / reaktionshætteglas
Vortexer
Pipetter (0.5 - 20 μL, 20 - 200 μL, 100 - 1000 μL)
Pipettespidser med filtre
Pudderfri engangshandsker

For spørgsmål bedes du kontakte R-Biopharm AG på pcr@r-biopharm.de.

7. Advarsler og forsigtighedsregler for brugerne

Kun til *in vitro*-diagnostisk anvendelse.

Denne test må kun udføres af uddannet laboratoriepersonale. Retningslinjerne for arbejde på medicinske laboratorier skal overholdes.

Brugsanvisningen for udførelse af denne test skal altid følges nøje.

Brug ikke munden til at pipettere prøver eller reagenser. Undgå kontakt med ødelagt hud og slimhinder.

Bær personligt beskyttelsesudstyr (passende handsker, kittel, sikkerhedsbriller) ved håndtering af reagenser og prøver, og vask hænderne efter afsluttet test.

Der må ikke ryges, spises eller drikkes i områder, hvor prøver eller testreagenser behandles.

Der skal anvendes adskilte rum, specialbeklædning og instrumenter til ekstraktion,

PCR-forberedelse og PCR for at forhindre krydskontaminering og falsk-positive resultater. Kliniske prøver skal betragtes som potentielt smitsomme og skal bortskaffes på passende vis, ligesom alle reagenser og materialer, der kommer i kontakt med potentielt smitsomme prøver.

Brug ikke sættet efter udløbsdatoen. Brugerne er ansvarlige for korrekt bortskaffelse af alle reagenser og materialer efter brug. Overhold de nationale bestemmelser for bortskaffelse.

Yderligere oplysninger om sikkerhedsdatabladet (Safety Data Sheet, SDS) kan findes under varenummeret på https://clinical.r-biopharm.com/search/.

For brugere i Den Europæiske Union: Rapporter alle alvorlige bivirkninger i forbindelse med produktet til R-Biopharm AG og de passende nationale myndigheder.

8. Protokol til generering af en farvekompensationsfil på LightCycler® 480 II

8.1 Klargøring af farvekompensation

Optø, bland og centrifuger reagenserne kortvarigt før brug. Afkøl altid alle reagenser under arbejdstrin (2 °C til -8 °C). Til en farvekompensationskørsel pipetteres fem reaktioner med 20 µL af hvert farvestof, herunder baggrunden (Blank), ind i en mikrotiterplade (s. Fig. 1).



Figur 1: Pipetteringsskema for farvekompensation på LightCycler[®] 480 II.

Sætkode	Reagens	Mængde pr. reaktion	Pipette 20 μL hver i følgende brønde
1	Blank	20 µL	B2, C2, D2, E2, F2
2	Dye 1	20 µL	B4, C4, D4, E4, F4
3	Dye 2	20 µL	B6, C6, D6, E6, F6
4	Dye 3	20 µL	B8, C8, D8, E8, F8
5	Dye 4	20 µL	B10, C10, D10, E10, F10
6	Dye 5	20 µL	B12, C12, D12, E12, F12

 Tabel 3:
 Klargøring af farvekompensation til LightCycler[®] 480 II

Efter pipettering af reagenserne forsegles mikrotiterpladen med optisk folie og centrifugeres om muligt. Start realtids-PCR i henhold til enhedsindstillingerne.

8.2 PCR-instrumentkonfiguration

Bemærk: Log ind på softwaren som administrator for at oprette detektionsformatet.

1. Når du har åbnet softwaren, skal du klikke på ikonet "**Tools**" for at programmere detektionsformatet (se følgende figur).



 Følgende vindue åbnes. Vælg "Detection Formats " i vinduet Værktøjer. Klik på knappen "New" for at oprette et nyt detektionsformat (s. Tab. 4) og gem det som "RIDA[®]GENE" (se følgende figur).



 Tabel 4:
 Opsætning af detektionskanal til LightCycler[®] 480 II

Filterkombination	
440 / 488	
465 / 510	
533 / 580	
533 / 610	
618 / 660	

Bemærk: Indstil værdien for Quant Factor, Melt Factor og Integration Time til 1 (standard).

Klik på knappen "Close" for at afslutte værktøjsvinduet.

3. Når detektionsformatet er programmeret, skal du klikke på knappen "**New Experiment**" (se følgende figur).



4. Vælg detektionsformatet "**RIDA**[®]**GENE**" og indtast et reaktionsvolumen på 20 μL (standard) (se følgende figur).

Window:	New Experiment			<u>-</u>	U
Experi-	Run Protocol	Data		_	Ru
ment	Setup		Customize	Block Si e	6

5. Programmér den termiske profil (s. Tab. 5).

Tabel 5:Termisk profil

			Ten	nperature targ	jets
Program	Cycles / Analysis Mode	Target [°C]	Acquisition Mode	Hold [hh:mm:ss]	Ramp rate [°c/s]
Initial Denat.	1 / none	95	none	00:00:30	4,4
Cycling	5 / Quantification	95	none	00:00:15	4,4
Cycling	57 Quantification	60	single	00:00:30	2,2
		95	none	00:00:01	4,4
TM Analysis	1 / Color Compensation	50	none	00:00:30	2,2
The Analysis		70	continuous		Acquisitions (per °C) = 1 0.14*

Bemærk: Sørg for, at antallet af "Cycles" og "Analysis Mode" er korrekt.

* Rampehastigheden kan variere en smule afhængigt af det valgte detektorformat.

6. Når programmeringen er færdig, skal eksperimentet se ud som følger (se følgende figur).



7. For at programmere layoutet af mikrotiterpladen skal du skifte til "Subset Editor". Klik på ikonet "Plus" for at oprette et nyt delmængde og indtaste et navn for layoutet (f.eks. Color Compensation). Tryk og hold Ctrl-tasten og venstre museknap nede, og marker alle brønde, der indeholder reagenser i mikrotiterpladen (se figur 1 og 2). Klik på knappen "Apply" for at afslutte delmængden. Skærmen skal vises som følger (se følgende figur).

Instrument:	Virtual LightCycler 480 96 System II / Not Conn	ecte	bd										Database
Window:	New Experiment											•	User:
	Subsets	ЪГ	New Subset	1 settings									
Experi-	2 Color Compensati			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sample Editor			A									·	
Analysis			B										
Sum.			с										
			D										
		•	E										
			F										
C)		G										
			н										

 Skift til "Sample Editor". Fra trin 1: "Select Workflow" vælg "Color Comp". I trin 2: "Select Samples", vælg den tidligere indstillede delmængde (Color Compensation). For at afslutte layoutet skal du vælge den tilsvarende dominerende kanal for hver reagens (Blank, Dye 1, Dye 2, Dye 3, Dye 4, Dye 5) i feltet "Dominant Channel" (s. Tab. 6). Vælg venligst "Water" for reaktionerne med farvebaggrunden (Blank) (se følgende figur).



 Tabel 6:
 Dominante kanalindstillinger for reagenserne (LightCycler[®] 480 II)

Reagens	Dominant Channel
Blank	Water
Dye 1	440 / 488
Dye 2	465 / 510
Dye 3	533 / 580
Dye 4	533 / 610
Dye 5	618 / 660

9. Placer pladen med de forberedte reaktioner i enheden. Klik på **"Experiment**" og derefter **"Start Run**" for at starte eksperimentet (se følgende figur).



8.3 Evaluering og oprettelse af en farvekompensationsfil

1. Når LightCycler[®]-eksperimentet er fuldført, skal du klikke på knappen "**Analysis**" (se følgende figur).



2. I dialogboksen "Create New Analysis" skal du gå til "Color Compensation". Vælg og bekræft det relevante delmængde (f.eks. Color Compensation) i dialogboksen, der åbnes (se følgende figur).



3. Analysen åbnes; klik på "**Calculate**" og derefter på "**Save CC Object**" (se følgende figur).



4. Gem farvekompensationsfilen som "**RIDA**[®]**GENE CCIV**" i mappen "**CCC**" (se følgende figur).

100		
	Save Color Compensation	
	Root System Admin Experiments Special Data Cuevy Std Curve E Templates	

Denne fil er derefter tilgængelig for andre LightCycler[®] 480 II eksperimenter. Generering af farvekompensationsfilen er nu færdig.

8.4 Anvendelse af farvekompensationsfilen

For at bruge farvekompensationsfilen skal du åbne det givne RIDA[®]GENE real-time PCR -eksperiment og indlæse den ønskede farvekompensation under "**Experiment**" "**Data**". I rullemenuen "**Color Comp (Off)**" skal du vælge "**in Database**" og derefter den gemte farvekompensationsfil (s. Fig. 2).



Figur 2: Anvendelse af farvekompensationen

Når farvekompensationen er valgt, skifter knappen "Color Comp (Off)" til "Color Comp (On)". Den valgte farvekompensation anvendes automatisk på alle filtre i analysen. RIDA[®]GENE real-time PCR -kørsel kan nu analyseres som sædvanlig.

Bemærk: Farvekompensationsfilen er specifik for hver LightCycler[®] 480 II. En ny farvekompensationsfil er nødvendig, hvis enheden udskiftes eller den optiske enhed repareres.

9. Versionshistorik

Versionsnummer	Afsnit og betegnelse
2021-09-09	Foregående version
2022-02-03	Generel revision: 4. Medfølgende reagenser 5. Opbevaringsanvisninger 6. Nødvendige materialer, som ikke følger med 7. Advarsler og forsigtighedsregler for brugerne

10. Symbolforklaringer

Generelle symboler

IVD	Til <i>in vitro</i> -diagnostisk anvendelse
Ĩ	Betjeningsvejledningen skal overholdes
LOT	Batchnummer
	Udløbsdato
X	Opbevaringstemperatur
REF	Bestillingsnummer
₹ Z	Antal tests
٢	Produktionsdato
	Producent

Testspecifikke symboler

Blank	Tom
Dye 1	Farvestof 1
Dye 2	Farvestof 2
Dye 3	Farvestof 3
Dye 4	Farvestof 4
Dye 5	Farvestof 5