

CE

# **RIDA<sup>®</sup>GENE** Color Compensation Kit IV

REF PG0004



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

## 1. Sihtotstarve

*In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks. Komplekti RIDA<sup>®</sup>GENE Color Compensation Kit IV kasutatakse seadmes LightCycler<sup>®</sup> 480 II toodete RIDA<sup>®</sup>GENE real-time PCR duplekssete ja enamate reaalajas PCRi tsüklite käigus värvide kalibreerimiseks. Komplekti RIDA<sup>®</sup>GENE Color Compensation Kit IV saab kasutada selleks, et luua värvikompensatsioonifail, mis võimaldab seadmes LightCycler<sup>®</sup> 480 II toodetega RIDA<sup>®</sup>GENE real-time PCR kvalitatiivseid ja kvantitatiivseid dupleksseid ja enamaid reaalajas PCRi analüüse teha.

Toode on mõeldud professionaalseks kasutamiseks.

## 2. Analüüsi kokkuvõte ja selgitus

Reaalajas PCRi puhul võib fluorestseeruva reportervärvi kiiratav fluorestsentssignaal katta külgneva värvikanali, tekitades seega signaali (ülekostvus). Fluorestsentssignaalide ülekostvus võib anda valetulemusi, kui seda ei korrigeerita värvikompensatsioonifailiga. Värvikompensatsioonifail kompenseerib värvikanalitevahelist ülekostvust.

## 3. Analüüsi põhimõte

Komplekti RIDA<sup>®</sup>GENE Color Compensation Kit IV kasutatakse seadmes LightCycler<sup>®</sup> 480 II toodete RIDA<sup>®</sup>GENE real-time PCR duplekssete ja enamate reaalajas PCRi tsüklite käigus värvide kalibreerimiseks.

## 4. Komplekti kuuluvad reaktiivid

Tabel 1.Komplekti kuuluvad reaktiivid (komplektis sisalduvad reaktiivid on piisavad<br/>kolmeks värvikompensatsiooniga analüüsiks.)

Komple kti kood	Reaktiiv	к	ogus	Kaane värv
1	Blank	1 ×	400 µL	valge, kasutusvalmis
2	Dye 1	1 ×	400 µL	sinine, kasutusvalmis
3	Dye 2	1 ×	400 µL	roheline, kasutusvalmis
4	Dye 3	1 ×	400 µL	kollane, kasutusvalmis
5	Dye 4	1 ×	400 µL	oranž, kasutusvalmis
6	Dye 5	1 ×	400 µL	punane, kasutusvalmis

2

# 5. Säilitamisjuhised

- Järgige tabelis 2 esitatud käsitsemisjuhiseid ja säilitage komplekti vahetult pärast kasutamist neis kirjeldatud viisil.
- Kõiki reaktiive tuleb hoida valguse eest kaitstult temperatuuril -16 °C kuni -28 °C ning avamata kujul võib neid kasutada kuni etiketile trükitud aegumiskuupäevani. Pärast aegumiskuupäeva kvaliteedigarantii enam ei kehti.
- Kõik reaktiivid tuleb enne kasutamist hoolikalt sulatada (nt külmkapis temperatuuril 2 8 °C).
- Kuni kolm korda uuesti külmutamine ja sulatamine ei mõjuta analüüsi omadusi.
- Jahutage kõik reaktiivid PCRi ettevalmistamise ajal nõuetekohaselt (2 8 °C).

	Säilitamistemperatuur	Maksimaalne säilitamisaeg
avamata	-16 °C kuni -28 °C	Võib kasutada kuni etiketile trükitud aegumiskuupäevani
avatult	-16 °C kuni -28 °C	3 sulatamise-külmutamise tsüklit

## Tabel 2. Säilitamistingimused ja teave

# 6. Vajalikud reaktiivid, mis ei kuulu komplekti

## 6.1 Reaktiivid

Pole.

# 6.2 Laboriseadmed

Analüüsi RIDA®GENE Color Compensation Kit IV tegemiseks on vaja järgmisi tarvikuid.

Seadmed
Reaalajas PCRi seade: LightCycler <sup>®</sup> 480 II (Roche)
Reaalajas PCRi tarvikud (plaadid (madal profiil, valged süvendid, läbipaistev raam), reaktsiooniviaalid, kiled)
Rootoriga tsentrifuug plaatide/reaktsiooniviaalide jaoks
Vorteksmikser
Pipetid (0,5 - 20 μL, 20 - 200 μL, 100 - 1000 μL)
Filtritega pipetiotsakud

Pulbrivabad ühekordsed kindad

Kui teil on küsimusi, võtke ühendust ettevõttega R-Biopharm AG meiliaadressil pcr@rbiopharm.de.

# 7. Hoiatused ja ettevaatusabinõud kasutajatele

Ainult in vitro diagnostiliseks kasutamiseks.

Seda analüüsi tohivad teha ainult kvalifitseeritud laboritöötajad. Järgida tuleb meditsiinilaborites töötamise juhiseid.

Analüüsi tehes järgige alati rangelt kasutusjuhendit.

Ärge kasutage proovide ega reaktiivide pipeteerimisel oma suud. Vältige haavadele ja limaskestadele sattumist.

Kandke reaktiivide ja proovide käsitsemisel isikukaitsevahendeid (sobivaid kindaid, laborikitlit, kaitseprille) ja peske pärast analüüsi lõpetamist käsi.

Ärge suitsetage, sööge ega jooge kohtades, kus proove käsitsetakse.

Ristsaastumise ja valepositiivsete tulemuste vältimiseks tuleb kasutada eraldi ruume, erirõivaid ning ekstraheerimise, PCRi ettevalmistamise ja PCRi jaoks vajalikke instrumente. Kliinilisi proove tuleb käsitada potentsiaalselt nakkusohtlikena ja need tuleb nõuetekohaselt hävitada, nagu kõik potentsiaalselt nakkusohtlike proovidega kokkupuutuvad reaktiivid ja materjalid.

Ärge kasutage komplekti pärast aegumiskuupäeva. Kasutajad vastutavad kõigi reaktiivide ja materjalide nõuetekohase jäätmekäitluse eest. Järgige riiklikke jäätmekäitluse eeskirju.

Lisateavet ohutuskaardi (Safety Data Sheet, SDS) kohta leiate kaubanumbrilt aadressil https://clinical.r-biopharm.com/search/.

Euroopa Liidu kasutajatele. Teatage kõigist tootega seotud rasketest kõrvaltoimetest ettevõttele R-Biopharm AG ja vastavatele riiklikele ametiasutustele.

# 8. Seadmes LightCycler<sup>®</sup> 480 II värvikompensatsioonifaili loomise juhend

## 8.1 Värvikompensatsiooni ettevalmistamine

Enne kasutamist sulatage, segage ja tsentrifuugige reaktiive lühidalt. Jahutage tööetappide ajal alati kõiki reaktiive (2 °C kuni -8 °C). Värvikompensatsiooni analüüsi tegemiseks pipeteerige mikrotiiterplaadile iga värviga viis reaktsiooni koguses 20 µL, kaasa arvatud taust (Blank) (vt joonist 1).



Joonis 1. Seadme LightCycler<sup>®</sup> 480 II värvikompensatsiooni pipeteerimise skeem

Komplekti kood	Reaktiiv	Kogus reaktsiooni kohta	Pipeteerige 20 μL järgmistesse süvenditesse
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.	Värvikompensatsiooni ettevalmistamine sea	ndme LightCycler <sup>®</sup> 480 II jaoks
----------	---	--

Pärast reaktiivide pipeteerimist sulgege mikrotiiterplaat optilise kilega ja võimaluse korral tsentrifuugige. Käivitage reaalajas PCR seadme sätete kohaselt.

## 8.2 PCR-seadme seadistamine

*Märkus.* Tuvastusvormingu seadistamiseks logige tarkvarasse administraatorina sisse.

**1.** Pärast tarkvara avamist klõpsake tuvastusvormingu programmeerimiseks ikooni "**Tools**" (vt järgmist joonist).



 Avaneb järgmine aken. Valige aknas Tools suvand "Detection Formats". Klõpsake nuppu "New", et luua uus tuvastusvorming (vt tabelit 4). Salvestage see nimega "RIDA<sup>®</sup>GENE" (vt järgmist joonist).



 Tabel 4.
 Tuvastuskanali seadistus seadme LightCycler<sup>®</sup> 480 II jaoks

*Märkus.* Määrake suvandite Quant Factor, Melt Factor ja Integration Time väärtuseks 1 (vaikeväärtus).

Aknast Tools väljumiseks klõpsake nuppu "Close".

**3.** Pärast tuvastusvormingu programmeerimist klõpsake nuppu "**New Experiment**" (vt järgmist joonist).



**4.** Valige tuvastusvorming "**RIDA<sup>®</sup>GENE**" ja sisestage reaktsioonimahu väärtuseks 20 μL (vaikeväärtus) (vt järgmist joonist).

Window:	New Experiment			2	User: System Admin	
Experi-	[	Run Protocol	Data		Run Notes	
ment	Detection Format RIDASGENE			Customize Block Size	ze 96 Plate ID	Reaction Volum
Subset Editor	Color Comp ID		Lot No	Test ID		

5. Programmeerige termoprofiil (vt tabelit 5).

#### Tabel 5. Termoprofiil

			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
Cualing	5 / Quantification	95	none	00:00:15	4,4
Cycling		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
		70	continuous		Acquisitions (per °C) = 1 0.14*

*Märkus.* Veenduge, et suvandite "Cycles" ja "Analysis Mode" arvud oleksid õiged.

\* Üleminekukiirus võib olenevalt valitud tuvastusvormingust veidi erineda.

**6.** Pärast programmeerimise lõpetamist peaks katse välja nägema järgnevalt (vt järgmist joonist).



7. Mikrotiiterplaadi paigutuse programmeerimiseks avage jaotis "Subset Editor". Uue alamhulga loomiseks ja paigutusele nime sisestamiseks (nt Color Compensation) klõpsake "Plus". Vajutage ja hoidke all klahvi Ctrl ja vasakut hiirenuppu ning märkige kõik mikrotiiterplaadil olevad reaktiive sisaldavad süvendid (vt jooniseid 1 ja 2). Alamhulga lõpetamiseks klõpsake nuppu "Apply". Kuva peaks välja nägema järgmiselt (vt järgmist joonist).

Instrument	t: Virtual LightCycler 480 96 System II / Not Conr	nected	l.										Databas	e: My Compute	r (Research)		Boche
Window:	New Experiment											-	User:	System Adm	in		
	- Subeate		low Subset	1 settings													
Experi- ment Subset Editor	2 Color Compensati V			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	*	<b>Ð</b>
Sample Editor			A														22
Analysis			в														
Report							1										
Sum.			2		-	-				-							$\mathbf{O}$
			D													<u>-</u>	$\overline{\otimes}$
			Ε														Ŀ
			F														<i>"</i>
			G														
			н													-	
		11	ingle I		1	1			1								
	Copy Rename									<u>.</u>				Арр	ly Clear	<u>Cancel</u>	]
	Template																
$\wedge$	▲ Warning 13.01.2021 15:21:41 Please a ▲ Warning 13.01.2021 15:21:54 Please a	activa	ate an in ate an in	strument befo	ore setting up	p a new run. p a new run.										100 •	0

8. Avage jaotis "Sample Editor" Tehke 1. etapis ("Select Workflow") valik "Color Comp". Valige 2. etapis ("Select Samples") varem määratud alamhulk (Värvikompensatsioon). Paigutuse lõpetamiseks valige igale reaktiivile (Blank, Dye 1, Dye 2, Dye 3, Dye 4, Dye 5) väljal "Dominant Channel" vastav domineeriv kanal (vt tabelit 6). Valige värvide taustaga (Blank) reaktsioonidele väärtus "Water" (vt järgmist joonist).

Instrument	Virtual LightCycler 480 96 System II / Not Connect	ted					Database:	My Computer (Resea	irch)	Racha
Window:	New Experiment					-	User:	System Admin		nocile
	Step 1: Select Workflow		- Select Filter Combin	ations		-			-Abs Quant-	
Experi- ment	C Abs Quant C Rel Quant C Scanning @ C	Color Comp	₹ 440.488 ₹ 465.5	10 17 533,580	₩ 533.610 ₩ 618.660				Units	2J
	C Tm C Melt Geno C Endpt Geno									
Subset			D 107 C 1 N							6
Editor	- Step 2: Select Samples	'o Color	Repi Or Sample Name	Channel						
	Subset: Color Compen - 💾 🖉 🖓 🧣	• в	Blank	Water .						
Sample	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 X	C I	Blank	Water						2
		D	Blank	Water						[ 품-품 ]
		E	Blank	water						
Analysis	Ë	8	Date 1	440-488						(∻)
$\equiv$		c	Dye 1	440-488						
Report		D	Dye 1	440-488						
		E	Dye 1	440-488						
		E	Dye 1	440-488						
Sum.	Dominant Channel	B	Dye 2	465-510						
$\square$	🔲 Water 📕 440-488 🔲 465-510	D	Dye 2	465-510						$\nabla$
	533-580 533-610 618-660	E	Dye 2	465-510						
		E	Dye 2	465-510						$\infty$
		в	Dye 3	533-580						U
		c	Dye 3	533-580						
		D	Dye 3	533-580						- Da
	1	8	Dye 3	533-580						
		8.0	Dve 4	533-610						(K)
		c.o 📕	Dye 4	533-610						2
		D.D	Dye 4	533-610						2
		E.)	Dye 4	533-610						
		F.D	Dye 4	533-610						
		0.0	Dye 5	610-660						
		D	Dye 5	618-660						
1	•	El	Dye 5	618-660						
1	- Step 3: Edit Color Comp Properties	F12	Dye 5	618-660						
	Sample Name									
	Dominant channel									
	Make Replicates									
	Apply . Configure Toggle View									
	Template Properties (Table)							Keset All	Export	
	Warning 13.01.2021 15:21:41 Please act	ivate an inst	trument before settir	g up a new r	un.				100 🔺	_
	Marning 13.01.2021 15:21:54 Please act;	ivate an inst	rument before settir	g up a new r	un.				100	0
									•	O

 Table 6.
 Domineeriva kanali seadistused reaktiividele (LightCycler<sup>®</sup> 480 II)

Reaktiiv	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.** Asetage ettevalmistatud reaktsioonidega plaat seadmesse. Klõpsake jaotist "**Experiment**" ja seejärel nuppu "**Start Run**", et katset alustada (vt järgmist joonist).



#### 8.3 Värvikompensatsioonifaili hindamine ja loomine

**1.** Pärast seadmega LightCycler<sup>®</sup> katse lõpetamist klõpsake nuppu "**Analysis**" (vt järgmist joonist).



2. Tehke dialoogiboksis "Create New Analysis" valik "Color Compensation". Valige ja kinnitage avanevas dialoogiboksis sobiv alamhulk (nt Color Compensation) (vt järgmist joonist).



**3.** Analüüs avaneb; klõpsake nuppu "**Calculate**" ja seejärel nuppu "**Save CC Object**" (vt järgmist joonist).



**4.** Salvestage värvikompensatsioonifail kausta "**CCC**" nimega "**RIDA**<sup>®</sup>**GENE CCIV**" (vt järgmist joonist).

Save Color Compensation	
Boot	
G System Admin	
Experiments	
Macros	
B Preferences	
E Special Data	
Met std	
Cuery Cuery	
Std Curve	
🗄 💼 Templates	
Vame 2021 CC IV 11188 (CC)	
	(V) (X)
alank dia seconda se	

See fail on seejärel saadaval teiste seadme LightCycler<sup>®</sup> 480 II katsete jaoks. Värvikompensatsioonifaili loomine on nüüd lõpetatud.

## 8.4 Värvikompensatsioonifaili kasutamine

Värvikompensatsioonifaili kasutamiseks avage tootega RIDA<sup>®</sup>GENE real-time PCR tehtav reaalajas PCRi katse ja laadige soovitud värvikompensatsioon jaotise "**Experiment**" alajaotises "**Data**". Tehke rippmenüüs **"Color Comp (Off)**" valik "**In Database**" ja seejärel valige salvestatud värvikompensatsioonifail (vt joonist 2).



#### Joonis 2. Värvikompensatsiooni kasutamine

Kui värvikompensatsioon on valitud, muutub nupp "**Color Comp (Off)**" nupuks "**Color Comp (On)**". Valitud värvikompensatsioon rakendatakse automaatselt kõigile analüüsi filtritele. Toote RIDA<sup>®</sup>GENE real-time PCR katset saab nüüd tavapäraselt analüüsida.

*Märkus*. Värvikompensatsioonifail on spetsiifiline iga LightCycler<sup>®</sup> 480 II jaoks. Seadme vahetamisel või optilise seadme parandamisel on vaja uut värvikompensatsioonifaili.

# 9. Versiooniajalugu

Versiooni number	Jaotis ja tähistus
2021-09-09	Eelmine versioon
2022-02-03	Üldine versioon: 4. Komplekti kuuluvad reaktiivid 5. Säilitamisjuhised 6. Vajalikud reaktiivid, mis ei kuulu komplekti 7. Hoiatused ja ettevaatusabinõud kasutajatele

# 10. Sümbolite selgitus

Üldised sümbolid

IVD	<i>In vitro</i> diagnostiliseks kasutamiseks	
Ĩ	Järgige kasutusjuhendit	
LOT	Partiinumber	
	Kasutada enne	
X	Säilitamistemperatuur	
REF	Artikli number	
∑ <b>∑</b>	Analüüside arv	
<u>س</u>	Tootmiskuupäev	
	Tootja	

# Analüüsipõhised sümbolid

Blank	Tühi
Dye 1	Värv 1
Dye 2	Värv 2
Dye 3	Värv 3
Dye 4	Värv 4
Dye 5	Värv 5