

RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV

REF PG0004



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstrasse 17, 64297 Darmstadt, Németország

1. Javasolt alkalmazás

In vitro diagnosztikai alkalmazásra. A RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV a LightCycler[®] 480 II készülékkel végzett 2-szeres és többszörös RIDA[®]GENE real-time PCR valós idejű PCR-futtatások színkalibrálására szolgál. A RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV használható színkompenzációs fájl létrehozására, amely lehetővé teszi a 2-szeres és többszörös kvalitatív és kvantitatív RIDA[®]GENE real time PCR valós idejű PCR-tesztek elemzését a LightCycler[®] 480 II készülékkel.

A terméket kizárólag szakemberek használhatják.

2. A vizsgálat magyarázata és leírása

A valós idejű PCR során a fluoreszcens jelzőfesték által kibocsátott fluoreszcens jel átfedhet egy szomszédos színcsatornát, így jelet generálhat (crosstalk). A fluoreszcens jelek áthallása hibás eredményeket okozhat, hacsak nem történik korrekció egy színkompenzációs fájl segítségével. A színkompenzációs fájl kompenzálhatja a színcsatornák közötti áthallásokat.

3. A vizsgálat elve

A RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV a LightCycler[®] 480 II készülékkel végzett 2-szeres és többszörös RIDA[®]GENE real time PCR valós idejű PCR-futtatások színkalibrálására szolgál.

4. Rendelkezésre bocsátott reagensek

1. táblázat: Rendelkezésre bocsátott reagensek (A készletben található reagensek 3 színkompenzációs futtatáshoz elegendőek.)

Készlet kódja	Reagens	Mennyiség		Fedél színe	
1	Blank	1 ×	400 µL	fehér, használatra kész	
2	Dye 1	1 ×	400 µL	kék, használatra kész	
3	Dye 2	1 ×	400 µL	zöld, használatra kész	
4	Dye 3	1 ×	400 µL	sárga, használatra kész	
5	Dye 4	1 ×	400 µL	narancssárga, használatra kész	
6	Dye 5	1 ×	400 µL	piros, használatra kész	

5. Tárolási utasítások

- Kérjük, kövesse a 2. táblázatban szereplő kezelési útmutatót, és a készletet közvetlenül a használat után a megadott információknak megfelelően tárolja.
- Minden reagenst fénytől védve, -16 °C és -28 °C között kell tárolni, és ha bontatlanok, a címkén feltüntetett lejárati dátumig felhasználhatók. A lejárati időn túl a minőségi szavatosság nem érvényes.
- Minden reagenst felhasználás előtt gondosan fel kell olvasztani (pl. hűtőszekrényben, 2 8 °C-on).
- A legfeljebb 3-szori ismételt fagyasztás és felolvasztás nem befolyásolja a vizsgálati tulajdonságokat.
- A PCR előkészítése során minden reagenst megfelelően hűtsön le (2 8 °C).

	Tárolási hőmérséklet	Maximális tárolási idő
bontatlan állapotban	-16 °C és -28 °C között	A nyomtatott lejárati dátumig használható
bontott állapotban	-16 °C és -28 °C között	3 felolvasztási-lefagyasztási ciklus

2. táblázat: Tárolási feltételek és információk

6. Szükséges, de nem biztosított reagensek

6.1. Reagensek

Nincsenek.

6.2. Laboratóriumi felszerelés

A RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV teszt elvégzéséhez a következő felszerelésekre van szükség:

Fel	sze	rel	és
			<u> </u>

Real time PCR valós idejű PCR-készülék: LightCycler[®] 480 II (Roche)

Real time PCR valós idejű PCR-fogyóeszközök (lemezek (alacsony, fehér

mérőcellák, átlátszó keret), reakciós üvegek, filmek)

Centrifuga rotorral lemezekhez/reakciós üvegekhez

Vortex-keverő

Pipetták (0,5 - 20 µL, 20 - 200 µL, 100 - 1000 µL)

Pipettahegyek szűrővel

Hintőpormentes eldobható kesztyű

A kérdéseivel forduljon az R-Biopharm AG vállalathoz a pcr@r-biopharm.de e-mail címen.

7. Figyelmeztetések és óvintézkedések a felhasználók számára

Kizárólag in vitro diagnosztikai alkalmazásra.

A vizsgálatot csak képesített laboratóriumi szakszemélyzet végezheti. Az orvosi laboratóriumokban való munkavégzésre vonatkozó irányelveket be kell tartani. A vizsgálat elvégzésekor mindig szigorúan tartsa be a kezelési kézikönyvet. Ne pipettázzon mintákat vagy reagenseket a szájával. Kerülje a sérült bőrrel és nyálkahártyával való érintkezést.

A reagensek és minták kezelésénél viseljen egyéni védőeszközt (megfelelő kesztyűt, laboratóriumi köpenyt, védőszemüveget), és a vizsgálat elvégzése után mosson kezet. Ne dohányozzon, ne egyen vagy igyon azokon a területeken, ahol a mintákat kezeli. A keresztszennyeződés és a hamis pozitív eredmények elkerülése érdekében külön helyiségeket, speciális ruházatot és eszközöket kell használni az extrakcióhoz, a PCR-előkészítéshez és a PCR-hez.

A klinikai mintákat potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és megfelelően kell ártalmatlanítani, mint minden olyan reagenst és anyagot, amely potenciálisan fertőző mintákkal érintkezik.

A készletet a lejárati idő után ne használja fel. Az összes reagens és anyag használat utáni megfelelő ártalmatlanításáért a felhasználók felelősek. Az ártalmatlanítással kapcsolatban kérjük, tartsa be az országos előírásokat.

A biztonsági adatlap (Safety Data Sheet, SDS) további részletei a cikkszám alatt találhatók a következő címen: https://clinical.r-biopharm.com/search/.

Az Európai Unióban lévő felhasználók számára: Jelentsen minden, a termékkel kapcsolatos súlyos nemkívánatos eseményt az R-Biopharm AG vállalatnak és a megfelelő nemzeti hatóságoknak.

8. Protokoll a színkompenzációs fájl létrehozásához a LightCycler[®] 480 II készüléken

8.1. Színkompenzáció előkészítése

Használat előtt olvassza fel, keverje össze és rövid ideig centrifugálja a reagenseket. A munkafolyamatok során mindig hűtse az összes reagenst (2 °C és -8 °C között). A színkompenzációs futtatáshoz pipettázzon öt reakciót, 20 µL-t minden egyes festékből, beleértve a hátteret (Blank) is, egy mikrotiterlemezre (lásd 1. ábra).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
в												
С		œ		D		0				0		0
D		LANK		YE 1		YE 2		YE 3		YE 4		YE 5
E												
F												
G												
н												

1. ábra: Pipettázási séma a színkompenzációhoz a LightCycler[®] 480 II készülékben.

Készlet kódja	Reagens	Reakciónkénti mennyiség	Pipettázzon egyenként 20 μL-t a következő mérőcellákba
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

3. táblázat: Színkompenzáció előkészítése a LightCycler[®] 480 II készülékhez

A reagensek pipettázása után zárja le a mikrotiterlemezt optikai fóliával, és lehetőség szerint centrifugálja. Indítsa el a real time PCR valós idejű PCR-t a készülék beállításainak megfelelően.

8.2. PCR-készülék beállítása

Megjegyzés: Jelentkezzen be a szoftverbe rendszergazdaként a detektálási formátumok beállításához.

1. A szoftver megnyitása után kattintson a "**Tools**" ikonra a detektálási formátum programozásához (lásd a következő ábrát).



2. A következő ablak nyílik meg. A Tools ablakban válassza a "Detection Formats" lehetőséget. Kattintson a "New" gombra egy új detektálási formátum létrehozásához (lásd: 4. tábl.) és mentse el "RIDA[®]GENE" néven (lásd a következő ábrát).



4. táblázat: A LightCycler[®] 480 II detektálócsatorna beállítása

Szűrő kombináció	
440 / 488	
465 / 510	
533 / 580	
533 / 610	
618 / 660	

Megjegyzés: Állítsa a Quant Factor, a Melt Factor és az Integration Time értékét 1-re (alapértelmezett).

Kattintson a "Close" gombra a Tools ablakból való kilépéshez.

3. A detektálási formátum programozása után kattintson a "**New Experiment**" gombra (lásd a következő ábrát).



4. Válassza ki a "**RIDA[®]GENE**" detektálási formátumot, és adja meg a 20 μL reakciótérfogatot (alapértelmezett) (lásd a következő ábrát).

Window:	New Experiment				✓ User:	System Admin	
Experi-		Run Protocol	Data		Run Notes		
ment	Detection Format RIDASGENE			Customize Block	k Size 96 Plate	BID Reaction Volum	20 🚖
Subset Editor	Color Comp ID		Lot No	Test ID			

- 5. Programozza be a termikus profilt (lásd 5. táblázat).
- 5. táblázat: Termikus profil

		Temperature targets							
Program	Cycles / Analysis Mode	Target [°C]	Acquisition Mode	Hold [hh:mm:ss]	Ramp rate [°c/s]				
Initial Denat.	1 / none	95	none	0:00:30	4,4				
Cualing	5 / Quantification	95	none	0:00:15	4,4				
Cycling	5 / Quantification	60	single	0:00:30	2,2				
		95	none	0:00:01	4,4				
TM Analysis	1 / Color	50	none	0:00:30	2,2				
	Compensation	70	continuous		Acquisitions (per °C) = 1 0.14**				

Megjegyzés: Győződjön meg arról, hogy a "**Cycles**" és az "**Analysis Mode**" száma helyes.

* A hőmérsékletemelkedés sebessége a kiválasztott detektálási formátumtól függően némileg változhat.

6. A programozás befejezése után a kísérletnek a következőképpen kell kinéznie: (lásd a következő ábrát).



7. A mikrotiterlemez elrendezésének programozásához váltson át a "Subset Editor" programba. Kattintson a "Plus" ikonra egy új részhalmaz létrehozásához, és adjon meg egy nevet az elrendezésnek (pl. Color Compensation). Tartsa lenyomva a Ctrl billentyűt és a bal egérgombot, és jelölje meg a mikrotiterlemez összes, reagenseket tartalmazó mérőcellákat (lásd az 1. és 2. ábrát). Kattintson az "Apply" gombra az alcsoport befejezéséhez. A képernyőnek a következőképpen kell megjelennie (lásd a következő ábrát).

Instrument	: Virtual LightCycler 480 96 System II / Not Conr	nect	ed										Databas	e: My Compute	r (Research)		Boche
Window:	New Experiment											-	User:	System Adm	in		
	Subsets		New Subset	1 settings													
Experi- ment Subset Editor	ID Name Analysis Report 2 Color Compensati V			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		2) ()
Sample Editor			A														82
Analysis			в														(
Report			с														
			D													<u>•</u>	$\langle \rangle$
			E														
			F														L.
			G														
			н													Ī	
	1		HH I) /							
										_					Jy Clear	Cancel	
	Apply Template							•									
\wedge	▲ Warning 13.01.2021 15:21:41 Please a ▲ Warning 13.01.2021 15:21:54 Please a	acti	vate an in vate an in	strument befo	re setting up	a new run. a new run.										100 •	\bigcirc

8. Váltson a "Sample Editor". Az 1. "Select Workflow" lépésben válassza a "Color Comp" lehetőséget. A 2. "Select Samples" lépésben válassza ki a korábban beállított alcsoportot (Color Compensation). Az elrendezés befejezéséhez válassza ki az egyes reagensek (Blank, Dye 1, Dye 2, Dye 3, Dye 4, Dye 5) megfelelő domináns csatornáját a "Dominant Channel" mezőben (lásd 6. táblázat). Kérjük, válassza a "Water" lehetőséget a színes háttérrel (Blank) rendelkező reakciókhoz (lásd a következő ábrát).



6. táblázat: Domináns csatorna beállítások a reagensekhez (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. Helyezze a lemezt az előkészített reakciókkal a készülékbe. Kattintson az "**Experiment**", majd a "**Start Run**" gombra a kísérlet elindításához (lásd a következő ábrát).



8.3. Kiértékelés és színkompenzációs fájl létrehozása

1. A LightCycler[®] kísérlet befejezése után kattintson az "**Analysis**" gombra (lásd a következő ábrát).



2. A "Create New Analysis" párbeszédpanelen lépjen a "Color Compensation" menüpontra. Válassza ki és erősítse meg a megfelelő részhalmazt (pl. Color Compensation) a megnyíló párbeszédpanelen (lásd a következő ábrát).



3. Megnyílik az elemzés; kattintson a "**Calculate**", majd a "**Save CC Object**" gombra (lásd a következő ábrát).



4. Mentse a színkompenzációs fájlt "**RIDA[®]GENE CCIV**" néven a "**CCC**" mappába (lásd a következő ábrát).

Rof Experiments Mores Mores Mores Mores <t< th=""><th></th><th></th></t<>		
Anne 2021 CC IV 11108 (CC)	Save Color Compensation	
ame 2021 CC IV 11188 (CC)		
tame 2021 CC IV 11188 (CC)	Read	
tame 1201 CC IV 11188 (CC)		
Autors Medicase	Generation Construction	
tame 2021 CC IV 11188 (CC)		
Image: Solution of the		
ame 2021 CC IV 11188 (CC)		
Ame 2021 CC IV 11188 (CC)		
ame 2021 CC IV 11188 (CC)		
Sid Curve B Templates		
game 2021 CC IV 11188 (CC)	Sid Dave	
ame 2021 CC IV 11188 (CC)		
Jame 2021 CC IV 11188 (CC)	E _ rempictos	
tame 2021 CC IV 11188 (CC)		
lame 2021 CC IV 11188 (CC)		
tame 2021 CC IV 11188 (CC)		
lame 2021 CC IV 11188 (CC)		
tame 2021 CC IV 11188 (CC)		
lame 2021 CC IV 11188 (CC)		
lame 2021 CC IV 11188 (CC)		
tame 2021 CC IV 11188 (CC)		
ame 2021 CC IV 11188 (CC)		
lame 2021 CC IV 11188 (CC)		
ame 2021 CC IV 11188 (CC)		
ame 2021 CC IV 11188 (CC)		
ame 2021 CC IV 11188 (CC)		
lame 2021 CC IV 11188 (CC)		
lame 2021 CC IV 11188 (CC)		
ame 2021 CC IV 11188 (CC)		
lame 2021 CC IV 11188 (CC)		
lame 2021 CC IV 11188 (CC)		
lame 2021 CC IV 11188 (CC)		
lame 2021 CC IV 11188 (CC)		
lame 2021 CC IV 11188 (CC)		
lame 2021 CC IV 11188 (CC)		
lame 2021 CC IV 11188 (CC)		
ame 2021 CC IV 11188 (CC)		
lame 2021 CC IV 11188 (CC)		
	Name 2021 CC TV 11188 /CC	

Ez a fájl ezután elérhető más LightCycler[®] 480 II kísérletekhez. A színkompenzációs fájl generálása ezzel befejeződött.

8.4. A színkompenzációs fájl használata

A színkompenzációs fájl használatához nyissa meg a megadott RIDA®GENE real time valós idejű PCR-kísérletet és töltse be a kívánt színkompenzációt az "**Experiment", Data"** menüpont alatt. A "**Color Comp (Off)"** legördülő menüben válassza ki az "**in Database**", majd a mentett színkompenzációs fájlt (lásd 2. ábra).



2. ábra: A Color Compensation használata

A színkompenzáció kiválasztásakor a "**Color Comp (Off)**" gomb "**Color Comp (On)**" gombra változik. A kiválasztott színkompenzáció automatikusan alkalmazásra kerül az elemzés összes szűrőjére. A RIDA[®]GENE real-time PCR-futtatás most már a szokásos módon elemezhető.

Megjegyzés: A színkompenzációs fájl minden egyes LightCycler[®] 480 II készülékre specifikus. Új színkompenzációs fájlra van szükség, ha a készüléket kicserélik vagy az optikai egységet javítják.

9. Verziótörténet

Verziószám	Szakasz és megnevezés
2021-09-09	Előző verzió
2022-02-03	Általános felülvizsgálat: 4. Rendelkezésre bocsátott reagensek 5. Tárolási utasítások 6. Szükséges, de nem biztosított reagensek 7. Figyelmeztetések és óvintézkedések a felhasználók számára

10. A szimbólumok magyarázata

Általános szimbólumok

IVD	In vitro diagnosztikai alkalmazásra
i	Tartsa be a kezelési kézikönyvet
LOT	Gyártási szám
	Felhasználhatósági idő
X	Tárolási hőmérséklet
REF	Tételszám
₹.	A tesztek száma
\sim	A gyártás dátuma
	Gyártó

Vizsgálatspecifikus szimbólumok

Blank	Üres
Dye 1	Festék 1
Dye 2	Festék 2
Dye 3	Festék 3
Dye 4	Festék 4
Dye 5	Festék 5