

RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV

REF PG0004



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

1. Paskirtis

Skirta naudoti *in vitro* diagnostikai. RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV skirtas spalvoms kalibruoti, atliekant 2 ar daugiau sekų RIDA[®]GENE real-time PCR ciklus prietaisu LightCycler[®] 480 II. Naudojant RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV galima sugeneruoti spalvų kompensavimo failą, kurio reikia atliekant kokybinę ir kiekybinę 2 ar daugiau sekų RIDA[®]GENE real-time PCR tyrimo analizę prietaisu LightCycler[®] 480 II.

Gaminys skirtas naudoti profesionalams.

2. Tyrimo santrauka ir paaiškinimas

Vykstant tikralaikei PGR, fluorescencinių reporterinių dažų skleidžiamas fluorescencinis signalas gali persidengti su gretimu spalvų kanalu ir generuoti signalą (sumišimas). Dėl fluorescencinių signalų sumišimo rezultatai gali būti neteisingi, nebent bus atlikta korekcija, naudojant spalvų kompensavimo failą. Spalvų kompensavimo failas gali kompensuoti spalvų kanalų sumišimą.

3. Tyrimo principas

RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV skirtas spalvoms kalibruoti, atliekant 2 ar daugiau sekų RIDA[®]GENE real-time PCR ciklus prietaisu LightCycler[®] 480 II.

4. Pateikiami reagentai

1 lentelė. Pateikiami reagentai (rinkinyje esančių reagentų pakanka 3 spalvų kompensavimo ciklams.)

Rinkinio kodas	Reagentas	к	iekis	Dangtelio spalva
1	Blank	1 ×	400 µL	Balta, paruošta naudoti
2	Dye 1	1 ×	400 µL	Mėlyna, paruošta naudoti
3	Dye 2	1 ×	400 µL	Žalia, paruošta naudoti
4	Dye 3	1 ×	400 µL	Geltona, paruošta naudoti
5	Dye 4	1 ×	400 µL	Oranžinė, paruošta naudoti
6	Dye 5	1 ×	400 µL	Raudona, paruošta naudoti

5. Laikymo nurodymai

- Vadovaukitės 2 lentelėje pateiktomis tvarkymo gairėmis ir iš karto po naudojimo laikykite rinkinį pagal nurodytą informaciją.
- Visus reagentus reikia laikyti nuo -16 °C iki -28 °C temperatūroje, apsaugojus nuo šviesos. Neatidarius galima naudoti iki etiketėje išspausdintos galiojimo pabaigos datos. Pasibaigus galiojimo laikui, kokybės garantija nebegalioja.
- Visus reagentus prieš naudojant reikia atsargiai atšildyti (pvz., šaldytuve, 2 8 °C).
- Pakartotinis užšaldymas ir atšildymas iki 3 kartų neturi įtakos tyrimo savybėms.
- Ruošdami PGR, tinkamai atvėsinkite visus reagentus (2 8 °C).

	Laikymo temperatūra	Maksimali laikymo trukmė
neatidarius	Nuo -16 °C iki -28 °C	Galima naudoti iki išspausdintos galiojimo pabaigos datos
atidarius	Nuo -16 °C iki -28 °C	3 atšildymo ir užšaldymo ciklai

2 lentelė. Laikymo sąlygos ir informacija

6. Reikalingi, bet nepateikiami reagentai

6.1. Reagentai

Nėra.

6.2. Laboratorinė įranga

Norint atlikti RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV tyrimą, reikalinga toliau nurodyta įranga.

Įranga
Tikralaikės PGR prietaisas LightCycler [®] 480 II (Roche)
Tikralaikės PGR sunaudojamos medžiagos (plokštelės (žemo profilio, su baltais šulinėliais, skaidriu rėmeliu), reakcijos buteliukai, plėvelės)
Centrifuga su rotoriumi plokštelėms / reakcijos buteliukams
Sūkurinė maišyklė
Pipetės (0,5 - 20 μL, 20 - 200 μL, 100 - 1 000 μL)
Pipečių antgaliai su filtrais
Vienkartinės pirštinės be pudros

Jei turite klausimų, susisiekite su R-Biopharm AG adresu pcr@r-biopharm.de.

7. Įspėjimai ir atsargumo priemonės naudotojams

Skirta naudoti tik in vitro diagnostikai.

Šį tyrimą turi atlikti tik kvalifikuoti laboratorijos darbuotojai. Būtina laikytis darbo medicinos laboratorijose gairių.

Atlikdami šį tyrimą visada griežtai laikykitės naudojimo instrukcijos.

Mėginių ar reagentų į pipetę netraukite burna. Venkite sąlyčio su pažeista oda ir gleivinėmis.

Tvarkydami reagentus ir mėginius naudokite asmens apsaugos priemones (mūvėkite tinkamas pirštines, vilkėkite laboratorinį chalatą, dėvėkite apsauginius akinius). Baigę tyrimą nusiplaukite rankas.

Nerūkykite, nevalgykite ir negerkite vietose, kuriose tvarkomi mėginiai.

Siekiant išvengti kryžminio užteršimo ir klaidingai teigiamų rezultatų, išskyrimo, PGR paruošimo bei PGR naudojimo procedūros turi būti atliekamos atskirose patalpose, vilkint specialius drabužius ir naudojant instrumentus.

Klinikinius mėginius reikia laikyti potencialiai užkrečiamais ir tinkamai pašalinti, kaip ir visus reagentus bei medžiagas, turinčius sąlytį su potencialiai užkrečiamais mėginiais. Nenaudokite rinkinio pasibaigus jo galiojimo laikui. Naudotojai yra atsakingi už tinkamą visų panaudotų reagentų ir medžiagų šalinimą. Laikykitės nacionalinių taisyklių dėl šalinimo.

Daugiau informacijos apie saugos duomenų lapą (Safety Data Sheet, SDS) ieškokite pagal prekės numerį adresu https://clinical.r-biopharm.com/search/.

Naudotojams Europos Sąjungoje: praneškite R-Biopharm AG ir atitinkamoms nacionalinėms institucijoms apie visus sunkius nepageidaujamus reiškinius, susijusius su gaminiu.

8. Spalvų kompensavimo failo generavimas naudojant prietaisą LightCycler[®] 480 II

8.1. Pasiruošimas spalvų kompensavimo procedūrai

Prieš naudodami atšildykite, išmaišykite ir trumpai centrifuguokite reagentus. Prieš kiekvieną darbų etapą visada atvėsinkite visus reagentus (nuo 2 °C iki -8 °C). Norėdami atlikti spalvų kompensavimo ciklą, pipete kiekvieno dažo įlašinkite į penkis mikrotitravimo plokštelės reakcijos langelius (20 μL), įskaitant foninį langelį (Blank) (žr. 1 paveikslėlį).



1 paveikslėlis. Lašinimo schema, norint prietaisu LightCycler[®] 480 II atlikti spalvų kompensavimo ciklą

Rinkinio kodas	Reagentas	Kiekis kiekvienai reakcijai	Pipete įlašinkite po 20 μL į šiuos šulinėlius
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 lentelė. Pasiruošimas prieš prietaisu LightCycler[®] 480 II atliekant spalvų kompensavimo ciklą

Pipete įlašinę reagentus, mikrotitravimo plokštelę užsandarinkite optine folija ir, jei įmanoma, centrifuguokite. Paleiskite tikralaikę PGR pagal prietaiso nuostatas.

8.2. PGR prietaiso nustatymas

- **Pastaba.** Prisijunkite prie programinės įrangos kaip administratorius, kad galėtumėte nustatyti aptikimo formatą.
- **1.** Atidarę programinę įrangą spustelėkite **Tools** piktogramą, kad galėtumėte programuoti aptikimo formatą (žr. toliau pateiktą paveikslėlį).



2. Atidaromas toliau parodytas langas. Lange Tools pasirinkite Detection Formats. Spustelėkite mygtuką New, kad sukurtumėte naują aptikimo formatą (žr. 4 lentelę) ir išsaugokite jį kaip RIDA[®]GENE (žr. toliau pateiktą paveikslėlį).



4 lentelė. Aptikimo kanalo nustatymas prietaise LightCycler[®] 480 II

Filtrų derinys	
440 / 488	
465 / 510	
533 / 580	
533 / 610	
618 / 660	

Pastaba. Nustatykite parametrų Quant Factor, Melt Factor ir Integration Time vertes į 1 (numatytoji nuostata).

Norėdami išeiti iš lango Tools, spustelėkite mygtuką Close.

3. Užprogramavę aptikimo formatą, spustelėkite mygtuką **New Experiment** (žr. toliau pateiktą paveikslėlį).



4. Pasirinkite **RIDA[®]GENE** aptikimo formatą ir įveskite 20 μL reakcijos tūrį (numatytoji nuostata) (žr. toliau pateiktą paveikslėlį).

Window:	New Experiment				• User:	System Admin	
Experi-		Run Protocol	Data		Run Note	1 5	
ment	Detection Format RIDASGENE			Customize Block	k Size 96 P	Plate ID Reaction Volum	20 🔹
Subset Editor	Color Comp ID		Lot No	Test ID			

- 5. Užprogramuokite šiluminį profilį (žr. 5 lentelę).
- 5 lentelė. Šiluminis profilis

		Temperature targets						
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	5 / Quantinication	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*			

Pastaba. Įsitikinkite, kad lauke Cycles nurodytas teisingas skaičius, o lauke Analysis Mode pasirinktas reikiamas režimas.

* Temperatūros kilimo sparta gali šiek tiek skirtis priklausomai nuo pasirinkto aptikimo formato.

Instrumen	t: Vin	tual LightCycler 480 96 System	n II / Not Connected							Database: My Com	nputer (Research)	Roche
Window:	Ne	w Experiment	Dur Desta ed			Data			<u> </u>	User: System	Admin	
Experi- ment	Setu	p	Run Protocol]	Data			_	Kun Notes		ə (Đ)
Subset	Deter	Comp ID			Lot No			Custom	Block Size 96	Plate ID	Reaction Volume 20	
Editor					cornoj	Proc	irams	100010				
Sample Editor		Program Name									Cycles Analysis Mode	. 52
\square	Ð	Cycling									5 Quantification	
Analysis	Θ	, IN-ABALYDE									i joir compensatio	
Report	$\mathbf{\sim}$					-						
\square		Township				TM-Analyse Tem	perature Targets	1	C	Par - 61 86	Pres Delay (males)	
Sum.	Ð	larget (C)	Acquisito	1 Mode	noid (nn:mm:	ss) Ramp Kate (- Acquisi	nuons (per °C)	Sec larget ('C)	step size (C	step Delay (cycles)	÷
	õ	50	None	-	00:00:01	2,2		-		-	*	
		70	Continuous			-0,11	× 1			¥	¥	$\cdot \otimes$
	•											
						Overview						世
	1000 1000 1000 100 100 100 100 100 100								\bigwedge		_	S.
	1	0.00 0.24 0.54	1.35 2.15	2:57	3.53 4.35	5:30 6:12 Estinated Time (7:08 h:mm:ss)	7.50 8.46	9.13 9.44	10:16 10:53	11:30 12:07	
	Ap Tem	oply oplate								End Program	m + 10 Cycles Start Run	
	A War War	ning 13.01.2021 15:21: ning 13.01.2021 15:21:	41 Please activate an : 54 Please activate an :	nstrument before nstrument before	setting up a new ru setting up a new ru	n. n.					100 100	. ?

6. Užprogramavus eksperimentas turi atrodyti kaip toliau pateiktame paveikslėlyje.

7. Norėdami programuoti mikrotitravimo plokštelės išdėstymą, perjunkite į Subset Editor. Spustelėkite Plus piktogramą, kad sukurtumėte naują poaibį, ir įveskite išdėstymo pavadinimą (pvz., Color Compensation). Paspauskite ir laikykite nuspaudę Ctrl bei kairijį pelės klavišą, pažymėkite visus mikrotitravimo plokštelės šulinėlius, kuriuose yra reagentų (žr. 1 ir 2 paveikslėlius). Spustelėkite mygtuką Apply, kad užbaigtumėte poaibį. Ekranas turi atrodyti kaip toliau pateiktame paveikslėlyje.

Instrumen	t: Virtual LightCycler 480 96 System II / Not Conn	ected											Databa	e: My Computer	(Research)		Roche
Window:	New Experiment											-	User:	System Admi	n		\sim
Experi- ment	Subsets ID Name Analysis Report	New	Subset 1	settings		1	1										Ð
Subset Editor	2 Color Compensati 🗹 🗹			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	-	
Sample Editor			A														5
Analysis			B														
Report			_														
Sum.			5														<pre>C</pre>
			D													-	Ň
		•	E														Ъ,
			F			-				-							
			G														
			н													Ī	-
		HH	•							<u>)</u>				Арр	ly Clear	j	
	Apply Template							•									
\wedge	▲ Warning 13.01.2021 15:21:41 Please a ▲ Warning 13.01.2021 15:21:54 Please a	ctivate	an inst an inst	trument befo trument befo	re setting up re setting up	a new run. a new run.										100 _	0

8. Perjunkite į Sample Editor. Skirsnyje 1 veiksmas: Select Workflow pasirinkite Color Comp. Skirsnyje 2 veiksmas: Select Samples pasirinkite anksčiau nustatytą pogrupį (Color Compensation). Norėdami baigti išdėstymą, lauke Dominant Channel pasirinkite atitinkamą dominuojantį kiekvieno reagento kanalą (Blank, Dye 1, Dye 2, Dye 3, Dye 4, Dye 5) (žr. 6 lentelę). Pasirinkite Water, jei reakcijos fonas spalvotas (Blank) (žr. toliau pateiktą paveikslėlį).



6 lentelė. Reagentų dominuojančio kanalo nuostatos (LightCycler[®] 480 II)

Reagentas	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. Į prietaisą įdėkite plokštelę su paruoštais reakcijų langeliais. Spustelėkite **Experiment**, tada spustelėkite **Start Run**, kad eksperimentas prasidėtų (žr. toliau pateiktą paveikslėlį).



8.3. Spalvų kompensavimo failo įvertinimas ir kūrimas

1. Atlikę LightCycler[®] eksperimentą, spustelėkite mygtuką **Analysis** (žr. toliau pateiktą paveikslėlį).



2. Dialogo lange Create New Analysis pasirinkite Color Compensation. Atsidariusiame dialogo lange pasirinkite ir patvirtinkite atitinkamą poaibį (pvz., Color Compensation) (žr. toliau pateiktą paveikslėlį).



3. Atidaroma analizė. Spustelėkite **Calculate**, tada spustelėkite **Save CC Object** (žr. toliau pateiktą paveikslėlį).



 Spalvų kompensavimo failą išsaugokite kaip RIDA[®]GENE CCIV aplanke CCC (žr. toliau pateiktą paveikslėlį).

Save Color Compensation	
+ D-Se Boot	
- System Admin	
Experiments	
Beferences	
E Special Data	
Merista	
+ Templates	
ię 🛛	
ié	
1	t i i i i i i i i i i i i i i i i i i i
	14
	F
Name 2021 CC IV 11188 (CC)	
Blank	

Tai padarius šį failą galima naudoti kitiems LightCycler[®] 480II eksperimentams. Spalvų kompensavimo failas sugeneruotas.

8.4. Spalvų kompensavimo failo naudojimas

Norėdami naudoti spalvų kompensavimo failą, atidarykite pateiktą RIDA[®]GENE real-time PCR eksperimentą ir skirsnio **Experiment** dalyje **Data** įkelkite pageidaujamą spalvų kompensavimą. Išskleidžiamajame meniu **Color Comp (Off)** pasirinkite **in Database**, tada pasirinkite išsaugotą spalvų kompensavimo failą (žr. 2 paveikslėlį).



2 paveikslėlis. Spalvų kompensavimo naudojimas

Pasirinkus spalvų kompensavimą, mygtukas **Color Comp (Off)** pasikeičia į **Color Comp (On)**. Pasirinktas spalvų kompensavimas automatiškai taikomas visiems analizės filtrams. Dabar RIDA[®]GENE real-time PCR galima analizuoti įprastai.

Pastaba. Spalvų kompensavimo failas skirtas konkrečiam prietaisui LightCycler[®] 480 II. Jei prietaisas buvo pakeistas arba optinis įrenginys buvo suremontuotas, reikia naujo spalvų kompensavimo failo.

9. Versijų istorija

Versijos numeris	Skyrius ir pavadinimas
2021-09-09	Ankstesnė versija
2022-02-03	Bendroji peržiūra: 4. Pateikiami reagentai 5. Laikymo nurodymai 6. Reikalingi, bet nepateikiami reagentai 7. Įspėjimai ir atsargumo priemonės naudotojams

10. Simbolių paaiškinimas

Bendrieji simboliai

IVD	Skirta naudoti <i>in vitro</i> diagnostikai
Ĩ	Vadovautis naudojimo vadovu
LOT	Partijos numeris
R	Naudoti iki
X	Laikymo temperatūra
REF	Gaminio numeris
\∑	Tyrimų skaičius
~ 1	Pagaminimo data
	Gamintojas

Su tyrimu susiję simboliai

Blank	Tuščiasis
Dye 1	1 dažas
Dye 2	2 dažas
Dye 3	3 dažas
Dye 4	4 dažas
Dye 5	5 dažas