

RIDA® GENE Color Compensation Kit IV

REF PG0004



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



1. Paredzētais lietojums

Lietošanai *in vitro* diagnostikā. Gēnu krāsu kompensācijas komplektu RIDA®GENE Color Compensation Kit IV paredzēts izmantot duplekša un augstākas vērtības RIDA®GENE real-time PCR testa cikliem instrumentā LightCycler® 480 II. Komplekts RIDA®GENE Color Compensation Kit IV ir piemērots krāsu kompensācijas faila ģenerēšanai, ko izmanto duplekšu un augstākas vērtības RIDA®GENE real-time PCR testu kvalitatīvai un kvantitatīvai analīzei instrumentā LightCycler® 480 II.

Izstrādājums paredzēts profesionālai lietošanai.

2. Kopsavilkums un skaidrojums par testu

Reāllaika PĶR testā fluorescējošas ziņojošās krāsvielas izstarotais fluorescējošais signāls var pārklāt blakus esošo krāsu kanālu, tādējādi ģenerējot signālu (šķērsrunu). Ja krāsu kompensācijas failā netiek veikti atbilstoši labojumi, fluorescējošā signāla ģenerētās šķērsrunas dēļ var iegūt nepareizu rezultātu. Krāsu kompensācijas fails var kompensēt krāsu kanālos ģenerēto šķērsrunu.

3. Testa princips

Gēnu krāsu kompensācijas komplektu RIDA®GENE Color Compensation Kit IV paredzēts izmantot duplekša un augstākas vērtības RIDA®GENE real-time PCR testa cikliem instrumentā LightCycler® 480 II.

4. Nodrošinātie reaģenti

1. tabula. Nodrošinātie reaģenti (komplektā iekļauto reaģentu apjoms ir pietiekams trim krāsu kompensācijas cikliem.)

Komplekta kods	Reaģents	Apjoms		Vāka krāsa
1	Blank	1 gab.	400 µL	Balts, gatavs lietošanai
2	Dye 1	1 gab.	400 µL	Zils, gatavs lietošanai
3	Dye 2	1 gab.	400 µL	Zaļš, gatavs lietošanai
4	Dye 3	1 gab.	400 µL	Dzeltens, gatavs lietošanai
5	Dye 4	1 gab.	400 µL	Oranžs, gatavs lietošanai
6	Dye 5	1 gab.	400 µL	Sarkans, gatavs lietošanai

5. Norādījumi par glabāšanu

- Lūdzu, ievērojiet 2. tabulā sniegtos norādījumus. Novietojiet komplektu glabāšanai uzreiz pēc lietošanas saskaņā ar sniegtajiem norādījumiem.
- Visi reaģenti jāglabā vidē, kurā temperatūras diapazons ir no -16 °C līdz -28 °C. Reaģentus nedrīkst pakļaut gaismas iedarbībai. Neatvērtus reaģentus drīkst lietot līdz derīguma termiņa beigām, kas norādīts uz etiķetes. Pēc derīguma termiņa beigām vairs netiek garantēta to kvalitāte.
- Pirms lietošanas visi reaģenti piesardzīgi jāatkausē (piemēram, ledusskapī 2–8 °C temperatūrā).
- Testa veikspēja netiek ietekmēta līdz trim atkārtotas sasaldēšanas un atkausēšanas reizēm.
- PKR sagatavošanas laikā (2–8 °C) atbilstoši atdzesējiet visus reaģentus.

2. tabula. Glabāšanas nosacījumi un informācija

	Glabāšanas temperatūra	Maksimālais glabāšanas ilgums
neatvērts	No -16 °C līdz -28 °C	Drīkst izmantot līdz norādītajam derīguma termiņa beigu datumam
atvērts	No -16 °C līdz -28 °C	Trīs atkausēšanas-sasaldēšanas cikli

6. Nepieciešamie, bet komplektā neiekļautie reaģenti

6.1. Reaģenti

Nav.

6.2. Laboratorijas aprīkojums

Komplekta RIDA®GENE Color Compensation Kit IV testam ir nepieciešams turpinājumā norādītais aprīkojums.

Aprīkojums
Reāllaika PĶR instruments: LightCycler® 480 II (Roche)
Reāllaika PĶR palīgmateriāli (plates (zema profila, baltas iedobes, caurspīdīgs rāmis), reakcijas flakoni, plēves)
Centrifūga ar rotoru platēm/reakcijas flakoniem
Virpuļmaisītājs
Pipetes (0,5–20 µL, 20–200 µL, 100–1000 µL)
Pipetes uzgaļi ar filtriem
Vienreiz lietojamie cimdi bez pulvera

Ja jums ir jautājumi, lūdzu, sazinieties ar R-Biopharm AG, rakstot uz pcr@r-biopharm.de.

7. Brīdinājumi un piesardzības pasākumi lietotājiem

Lietošanai tikai *in vitro* diagnostikā.

Šo testu drīkst veikt tikai kvalificēti laboratorijas darbinieki. Ievērojiet vadlīnijas darbam medicīnas laboratorijās.

Veicot šo testu, vienmēr ievērojiet lietošanas rokasgrāmatā sniegto informāciju.

Paraugus vai reaģentus nedrīkst iepilināt no pipetes, pūšot ar muti. Izvairieties no saskares ar bojātu ādu un gļotādu.

Rīkojoties ar reaģentiem un paraugiem, izmantojiet individuālos aizsarglīdzekļus (atbilstošus cimdus, laboratorijas halātu, aizsargbrilles) un pēc testa nomazgājiet rokas.

Nesmēķējiet, neēdiet un nedzeriet vietās, kur tiek apstrādāti paraugi.

Lai izvairītos no savstarpēja piesārņojuma un kļūdaini pozitīva rezultāta, apstrāde jāveic atsevišķā telpā, kā arī jāizmanto ekstrakcijai, PĶR sagatavošanai un PĶR testam piemērots apģērbs un instrumenti.

Klīniskie paraugi un visi reaģenti un materiāli, kas nonāk saskarē ar potenciāli infekcioziem paraugiem, jāuzskata par potenciāli infekcioziem un atbilstoši jāutilizē.

Nelietojiet komplektu pēc tā derīguma termiņa beigām. Lietotājiem ir pienākums nodrošināt visu reaģentu un materiālu pareizu utilizāciju pēc to lietošanas. Utilizācija jāveic saskaņā ar attiecīgajā valstī spēkā esošajiem noteikumiem.

Detalizēta informācija par drošības datu lapu (Safety Data Sheet, SDS) ir atrodama ar preces numuru vietnē <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Lietotājiem Eiropas Savienībā: ziņot R-Biopharm AG un attiecīgajām valsts iestādēm par visām nopietnajām nevēlamajām blakusparādībām, kas saistītas ar šo izstrādājumu.

8. Protokols krāsu kompensācijas faila ģenerēšanai instrumentā LightCycler® 480 II

8.1. Krāsu kompensācijas sagatavošana

Pirms lietošanas atkausējiet, samaisiet un īslaicīgi centrifugējiet reaģentus. Darba posmu laikā reaģenti vienmēr ir atbilstoši jāatdzesē (no 2 °C līdz -8 °C). Lai veiktu krāsu kompensācijas ciklu, ar pipeti iepilniet mikrotitrēšanas platē piecas krāsvielu reakcijas pa 20 µL katru, tostarp fona jeb tukšu (Blank) (skatīt 1. attēlu).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
A										
B										
C		BLANK	DYE 1		DYE 2	DYE 3		DYE 4		DYE 5
D										
E										
F										

1. attēls. Krāsu kompensācijas pipetēšanas shēma instrumentā LightCycler® 480 II.

3. tabula. Krāsu kompensācijas sagatavošana instrumentam LightCycler® 480 II

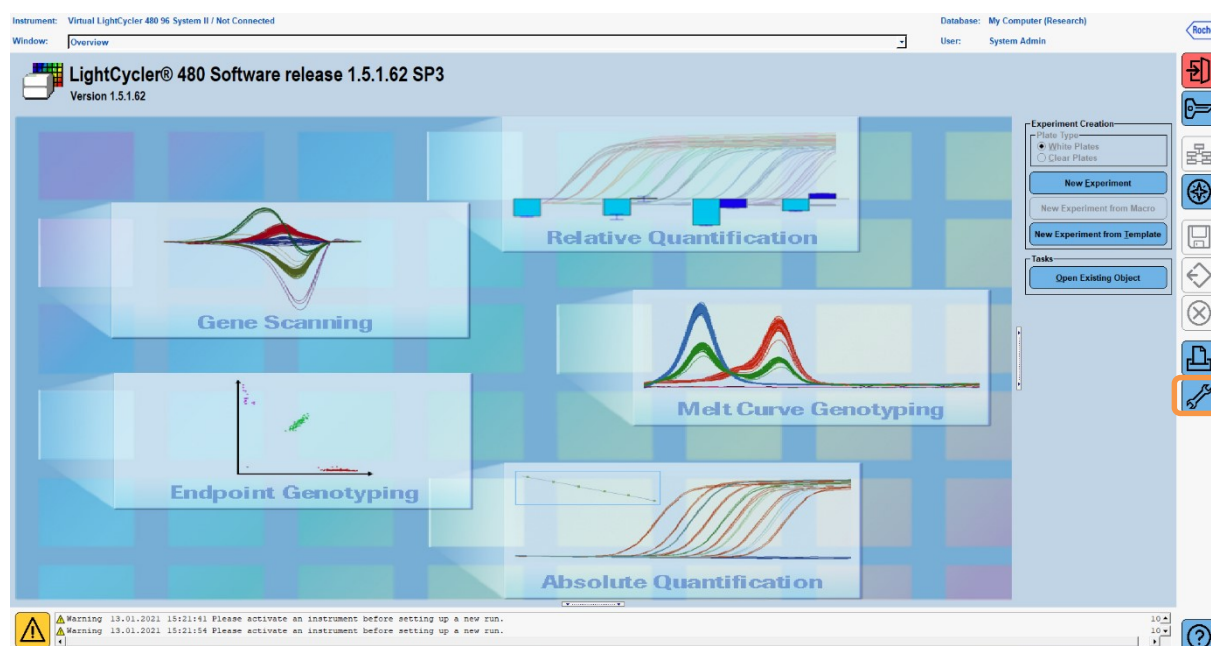
Komplekta kods	Reaģents	Daudzums katrai reakcijai	Iepilini 20 µL katrā no norādītajām iedobēm
1	Blank	20 µL	B2, C2, D2, E2, F2
2	Dye 1	20 µL	B4, C4, D4, E4, F4
3	Dye 2	20 µL	B6, C6, D6, E6, F6
4	Dye 3	20 µL	B8, C8, D8, E8, F8
5	Dye 4	20 µL	B10, C10, D10, E10, F10
6	Dye 5	20 µL	B12, C12, D12, E12, F12

Pēc reaģentu iepilināšanas pārklājiet mikrotitrēšanas plati ar optisko foliju un, ja iespējams, centrifugējiet to. Sāciet reāllaika PQR ciklu atbilstoši ierīces iestatījumiem.

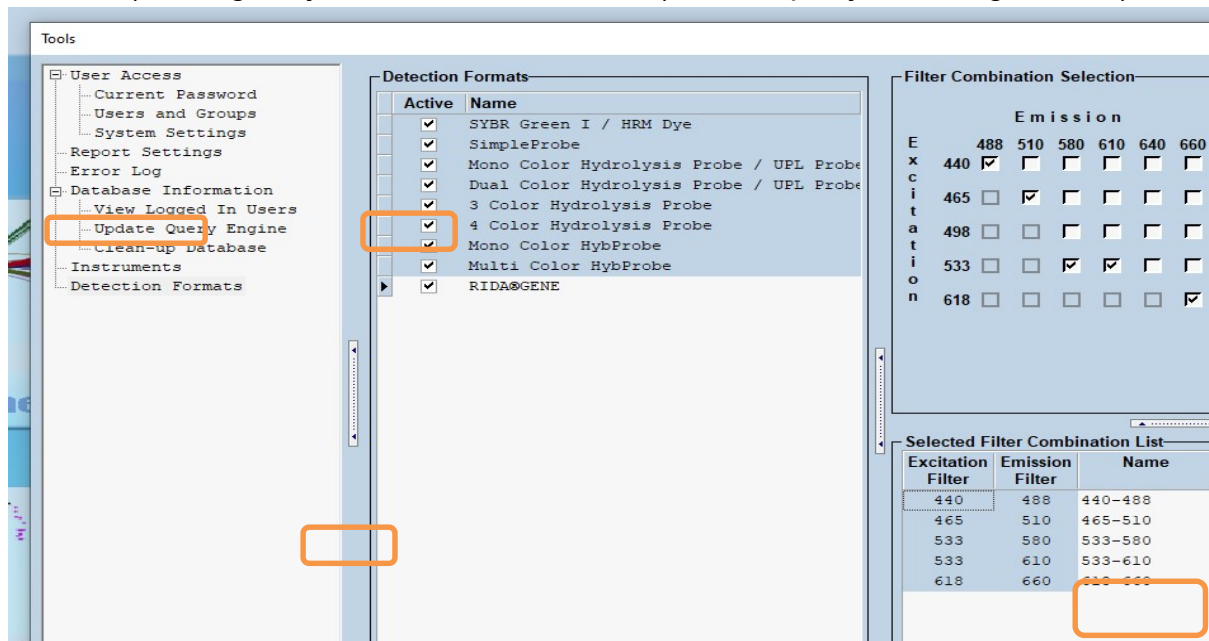
8.2. PQR instrumenta iestatījumi

Piezīme. Lai iestatītu noteikšanas formātu, piesakieties programmatūrā kā administrators.

1. Startējiet programmatūru, noklikšķiniet uz ikonas **"Tools"** un pēc tam iestatiet noteikšanas formātu (skatīt nākamo attēlu).



2. Tiks atvērts turpinājumā redzamais logs. Logā Tools atlasiet vienu "Detection Formats". Noklikšķiniet uz pogas "New", izveidojiet jaunu noteikšanas formātu (skatīt 4. tabulu) un saglabājiet to kā "RIDA®GENE" (skatīt turpinājumā sniegto attēlu).



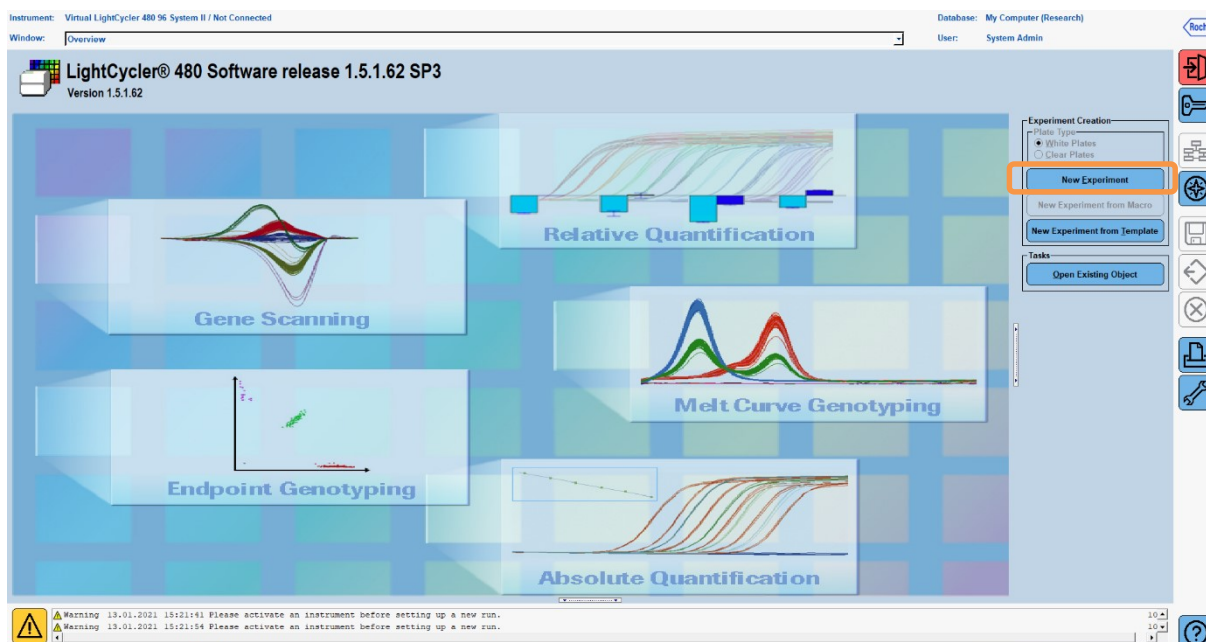
4. tabula. Noteikšanas kanāla iestatīšana instrumentam LightCycler® 480 II

Filtru kombinācija
440/488
465/510
533/580
533/610
618/660

Piezīme. Parametriem Quant Factor, Melt Factor un Integration Time iestatiet vērtību 1 (noklusējums).

Noklikšķiniet uz pogas "Close", lai izietu no loga Tools.

3. Kad noteikšanas formāta iestatīšana ir pabeigta, noklikšķiniet uz pogas “**New Experiment**” (skatīt turpinājumā sniegto attēlu).



4. Atlasiet noteikšanas formātu “**RIDA®GENE**” un ievadiet reakcijas tilpumu 20 µL (noklusējums) (skatiet turpinājumā sniegto attēlu).



5. Iestatiet termisko profilu (skatīt 5. tabulu).

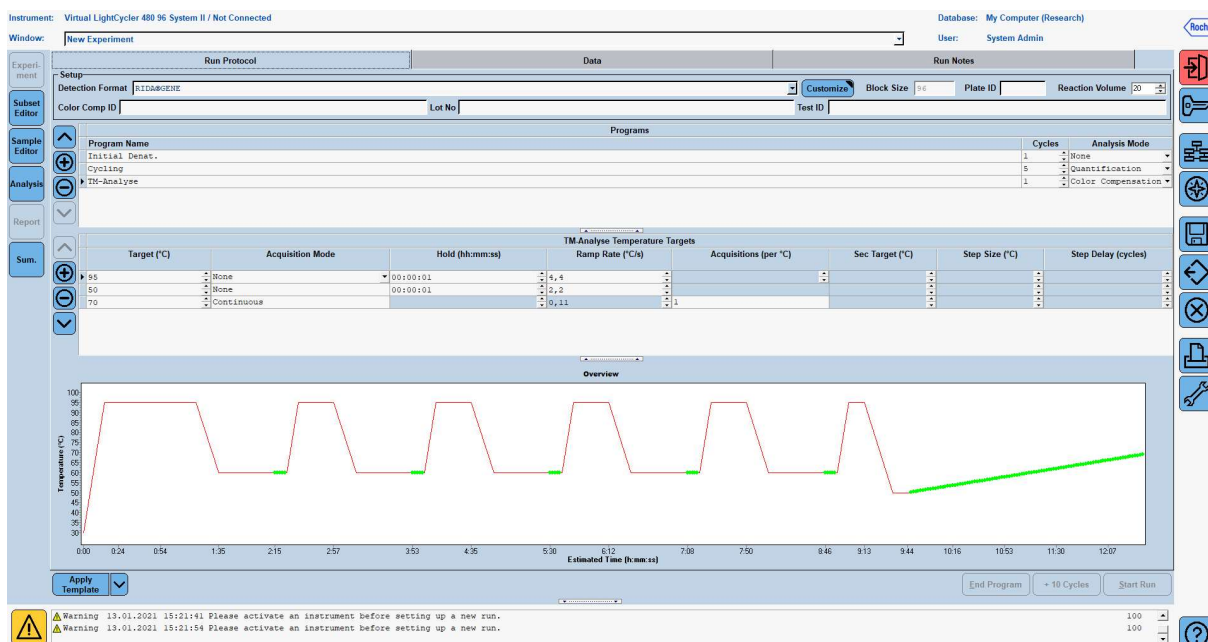
5. tabula. Termiskais profils

Program	Cycles / Analysis Mode	Temperature targets			
		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
		60	single	00:00:30	2,2
TM Analysis	1 / Color Compensation	95	none	00:00:01	4,4
		50	none	00:00:30	2,2
		70	continuous		Acquisitions (per °C) = 10.14*

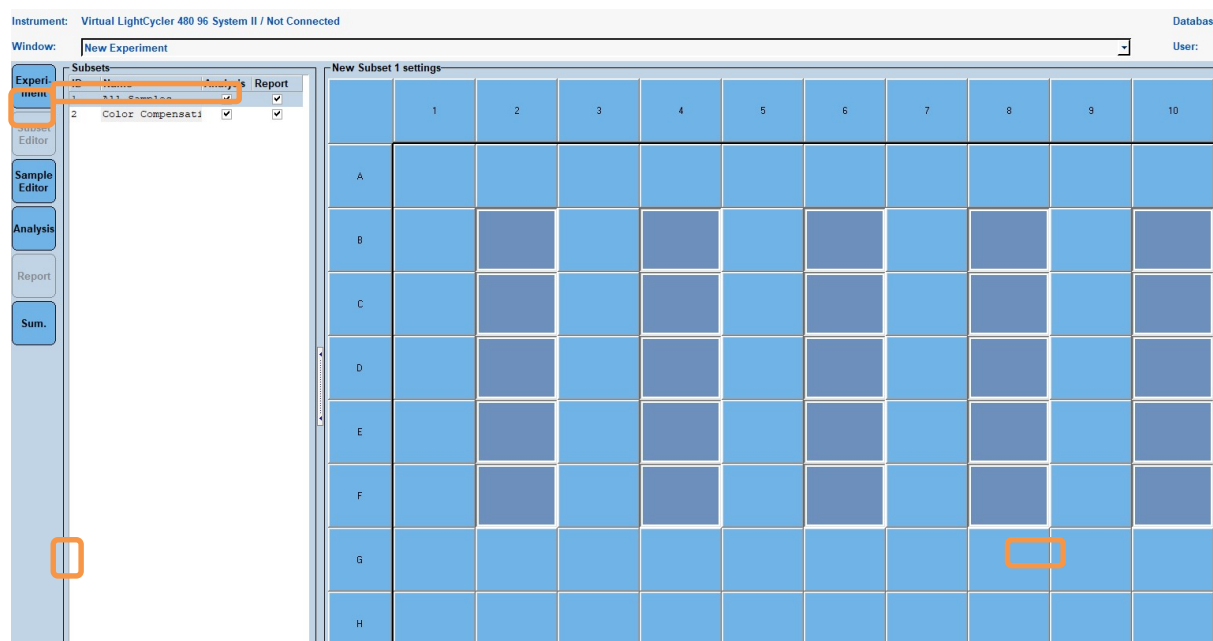
Piezīme. Pārliedcinieties, vai parametru “**Cycles**” un “**Analysis Mode**” vērtības ir pareizas.

* Atkarībā no atlasītā detektora formāta palielinājuma ātrums var nedaudz atšķirties.

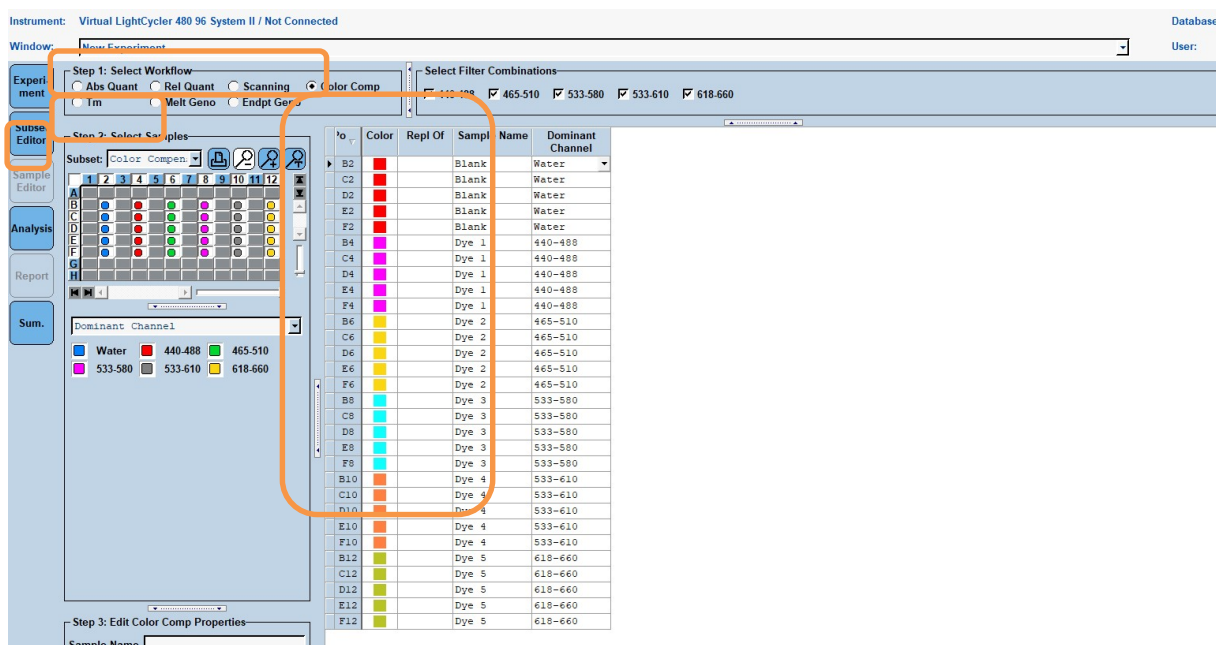
6. Kad iestatīšana ir pabeigta, eksperimentam jāizskatās tādām kā turpinājumā sniegtajā attēlā.



7. Lai iestatītu mikrotitrēšanas plates izkārtojumu, pārejiet uz sadaļu “**Subset Editor**”. Noklikšķiniet uz ikonas ar tekstu “**Plus**”, lai izveidotu jaunu apakškopu, un pēc tam ievadiet izkārtojuma nosaukumu (piemēram, Color Compensation). Turiet nospiestu taustiņu Ctrl un ar peles kreiso pogu atzīmējiet visas mikrotitrēšanas plates iedobes ar reaģentiem (skatīt 1. un 2. attēlu). Noklikšķiniet uz pogas “**Apply**”, lai pabeigtu apakškopas izveidi. Ekrāna izkārtojumam jābūt tādām kā turpinājumā sniegtajā attēlā.



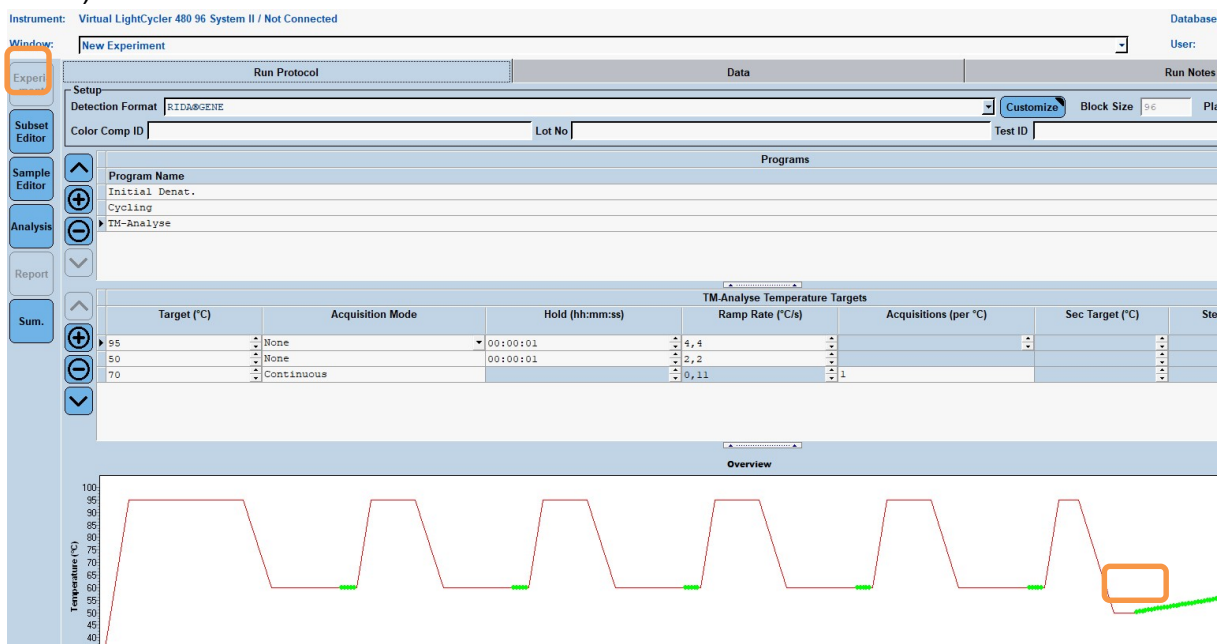
8. Pārejiet uz sadaļu “**Sample Editor**”. 1. sadaļā “**Select Workflow**” atlasiet opciju “**Color Comp**”. 2. sadaļā “**Select Samples**” atlasiet iepriekš iestatīto apakškopu (Color Compensation). Lai pabeigtu izkārtojuma izveidi, laukā “**Dominant Channel**” atlasiet dominējošo kanālu katram reaģentam (Blank, Dye 1, Dye 2, Dye 3, Dye 4, Dye 5) (skatīt 6. tabulu). Reakcijām ar fona krāsu (Blank) atlasiet “**Water**” (skatīt turpinājumā sniegto attēlu).



6. tabula. Reaģentu dominējošā kanāla iestatījumi (LightCycler® 480 II)

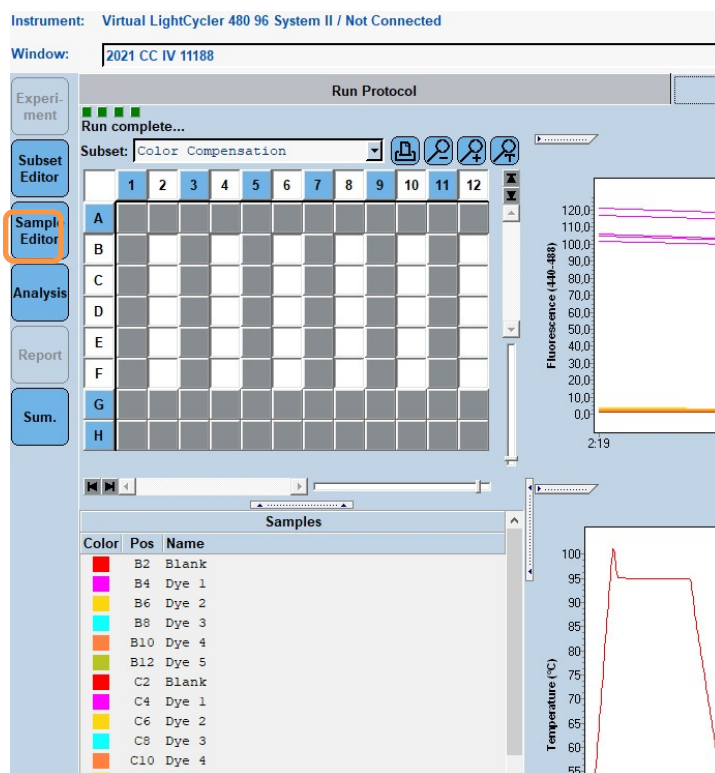
Reaģents	Dominant Channel
Blank	Water
Dye 1	440/488
Dye 2	465/510
Dye 3	533/580
Dye 4	533/610
Dye 5	618/660

9. Ierīcē ievietojiet plati ar sagatavotajām reakcijām. Noklikšķiniet uz “**Experiment**” un pēc tam noklikšķiniet uz “**Start Run**”, lai sāktu eksperimentu (skatīt turpinājumā sniegto attēlu).

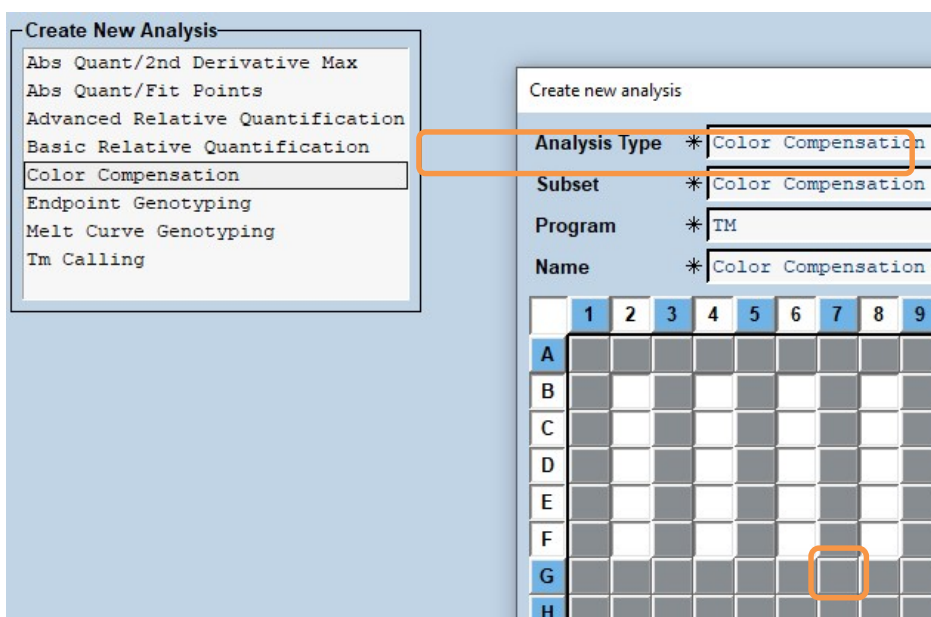


8.3. Krāsu kompensācijas faila novērtēšana un izveide

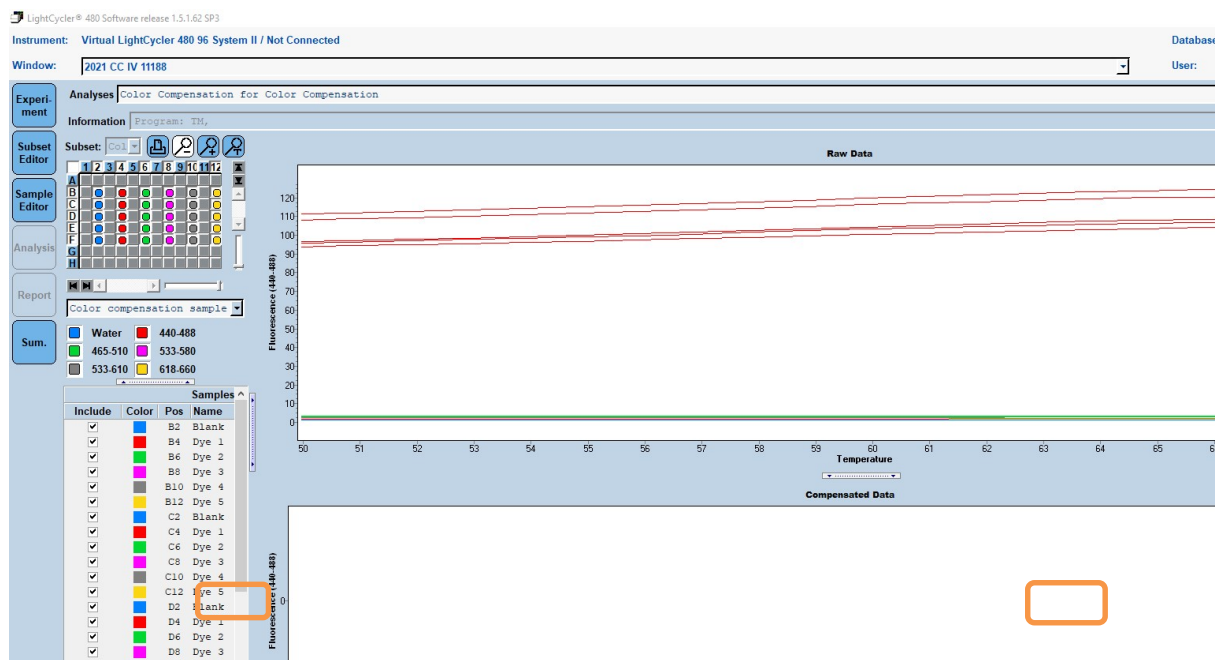
1. Kad LightCycler® eksperiments ir pabeigts, noklikšķiniet uz pogas **“Analysis”** (skatīt turpinājumā sniegto attēlu).



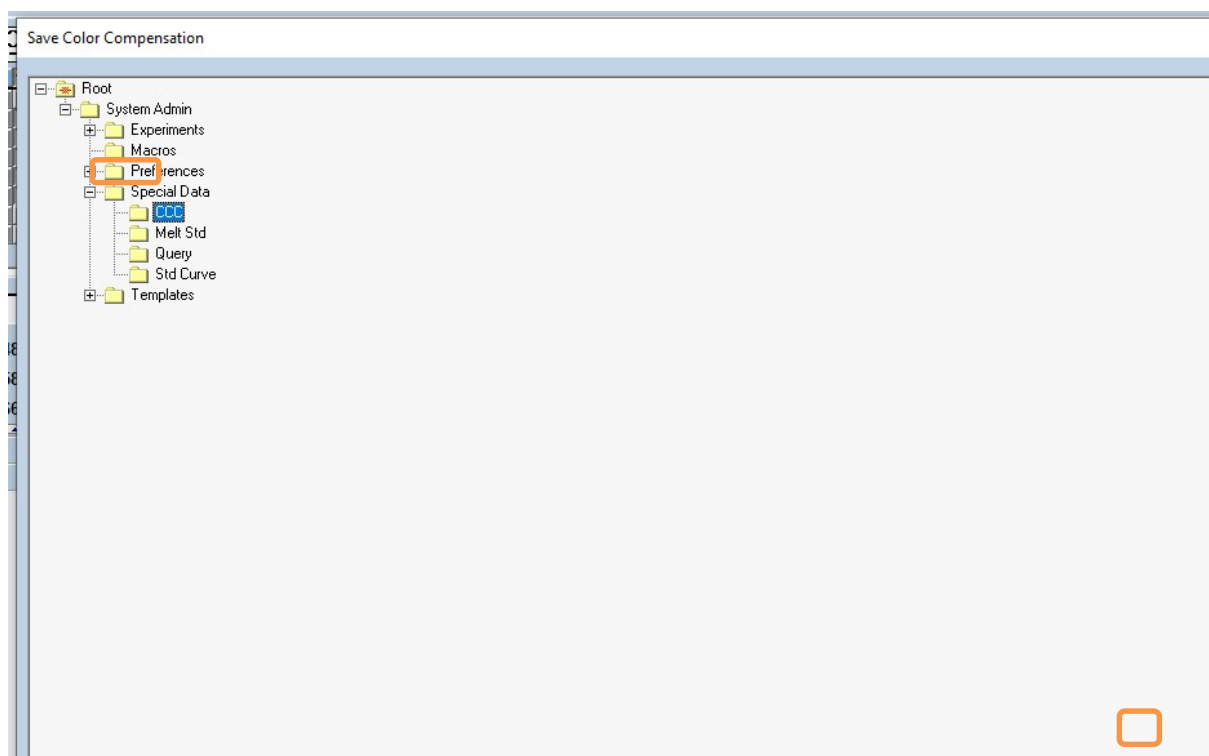
2. Dialoglodziņā **“Create New Analysis”** pārejiet uz vienumu **“Color Compensation”**. Atvērtajā dialoglodziņā atlasiet vēlamo apakškopu (piemēram, Color Compensation) un apstipriniet atlasi (skatīt turpinājumā sniegto attēlu).



3. Tiks atvērts analīzes logs, kurā noklikšķiniet uz **“Calculate”** un pēc tam noklikšķiniet uz **“Save CC Object”** (skatīt turpinājumā sniegto attēlu).



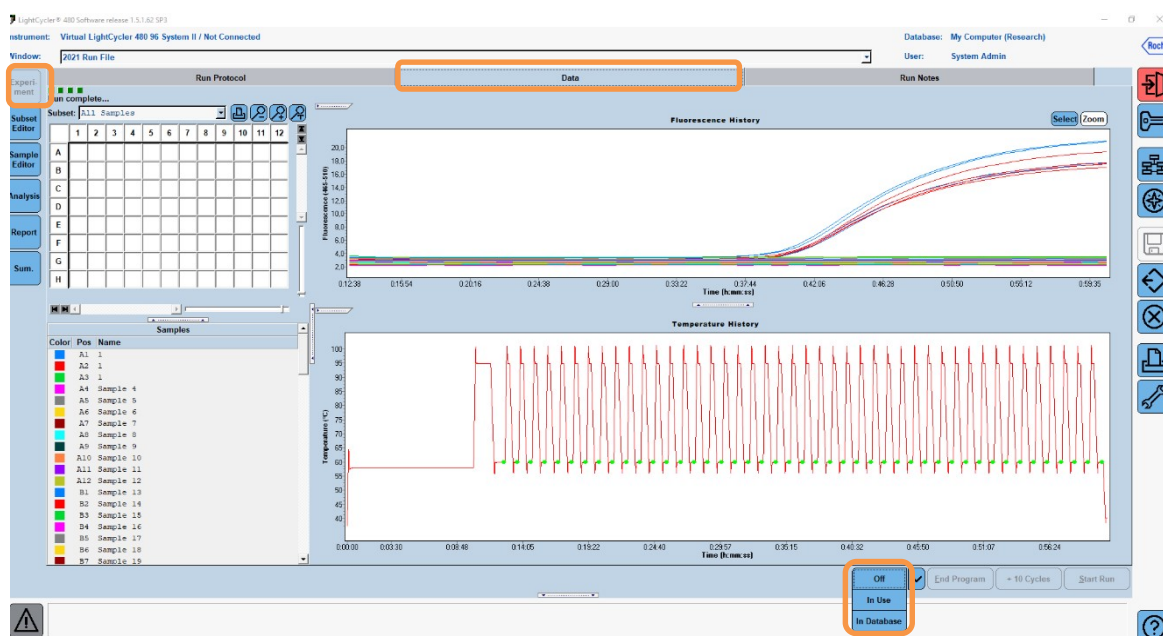
4. Saglabājiēt krāsu kompensācijas failu ar nosaukumu **“RIDA®GENE CCIV”** mapē **“CCC”** (skatīt turpinājumā sniegto attēlu).



Tagad šo failu varēs izmantot citos LightCycler® 480 II eksperimentos. Krāsu kompensācijas faila ģenerēšana ir pabeigta.

8.4. Krāsu kompensācijas faila izmantošana

Lai izmantotu krāsu kompensācijas failu, atveriet attiecīgo RIDA®GENE real-time PCR eksperimentu un ielādējiet vēlamo krāsu kompensāciju sadaļas **“Experiment”** apakšsadaļā **“Data”**. Nolaižamajā izvēlnē Color Comp (Off) atlasiet vienu no **“in Database”** un pēc tam atlasiet saglabāto krāsu kompensācijas failu (skatīt 2. attēlu).



2. attēls. Krāsu kompensācijas izmantošana

Ja ir atlasīta krāsu kompensācija, poga **“Color Comp (Off)”** tiek nomainīta uz pogu **“Color Comp (On)”**. Atlasītā krāsu kompensācija tiek automātiski lietota visiem analīzes filtriem. Tagad RIDA®GENE real-time PCR ciklu var analizēt kā parasti.

Piezīme. Katram instrumentam LightCycler® 480 II ir jāizmanto tam izveidotais krāsu kompensācijas fails. Ja izmantojat citu ierīci vai optiskajam elementam tika veikts remonts, jāizmanto jauns krāsu kompensācijas fails.

9. Pārskatīto versiju vēsture

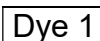
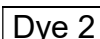
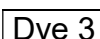
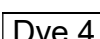
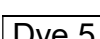
Versijas numurs	Sadaļa un apzīmējums
2021-09-09	Iepriekšējā versija
2022-02-03	Pārskats par izmaiņām 4. Nodrošinātie reaģenti 5. Norādījumi par glabāšanu 6. Nepieciešamie, bet komplektā neiekļautie reaģenti 7. Brīdinājumi un piesardzības pasākumi lietotājiem

10. Simbolu skaidrojums

Vispārīgi simboli

	Lietošanai <i>in vitro</i> diagnostikā
	Ievērojiet lietošanas rokasgrāmatu
	Sērijas numurs
	Izlietot pirms
	Glabāšanas temperatūra
	Preces numurs
	Testu skaits
	Izgatavošanas datums
	Ražotājs

Testos izmantotie simboli

	Tukšs
	1. krāsa
	2. krāsa
	3. krāsa
	4. krāsa
	5. krāsa