

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. Tiltenkt bruk

For *in vitro*-diagnostisk bruk. RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV brukes til fargekalibrering av 2-plex og høyere RIDA[®]GENE real-time PCR kjører på LightCycler[®] 480 II. RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV kan brukes til å generere en fargekompensasjonsfil for å muliggjøre analyse av kvalitative og kvantitative 2-plex og høyere RIDA[®]GENE real-time PCR-tester på LightCycler[®] 480 II.

Produktet er tiltenkt for profesjonell bruk.

2. Sammendrag og forklaring av testen

I en sanntids-PCR, kan det utsendte fluorescerende signalet til et fluorescerende rapportørfargestoff legge seg over en tilstøtende fargekanal, og dermed generere et signal (krysstale). Krysstale fra fluorescerende signaler kan forårsake feil resultater med mindre en korreksjon utføres av en fargekompensasjonsfil. En fargekompensasjonsfil kan kompensere for krysstale mellom fargekanalene.

3. Testprinsipp

RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV brukes til fargekalibrering av 2-plex og høyere RIDA[®]GENE real-time PCR kjører på LightCycler[®] 480 II.

4. Medfølgende reagenser

Tabell 1:Medfølgende reagenser (de medfølgende reagensene i settet er tilstrekkelige
for 3 fargekompensasjonskjøringer.)

Settkode	Reagens	Me	engde	Lokkfarge
1	Blank	1 x	400 µL	hvit, klar til bruk
2	Dye 1	1 x	400 µL	blå, klar til bruk
3	Dye 2	1 x	400 µL	grønn, klar til bruk
4	Dye 3	1 x	400 µL	gul, klar til bruk
5	Dye 4	1 x	400 µL	oransje, klar til bruk
6	Dye 5	1 x	400 µL	rød, klar til bruk

5. Oppbevaringsinstruksjoner

- Følg retningslinjene for håndtering i tabell 2 og lagre settet direkte etter bruk i henhold til den angitte informasjonen.
- Alle reagenser må oppbevares mørkt ved -16 °C til -28 °C og kan (hvis de er uåpnet) brukes frem til utløpsdatoen som er angitt på etiketten. Etter utløpsdatoen er kvalitetsgarantien ikke lenger gyldig.
- Alle reagenser bør tines forsiktig før bruk (f.eks. i kjøleskap ved 2 8 °C).
- Gjentatt frysing og tining opptil 3 ganger påvirker ikke testegenskapene.
- Avkjøl alle reagenser på en hensiktsmessig måte under forberedelse av PCR (2 8 °C).

	Oppbevaringstemperatur	Maksimal lagringstid
uåpnet	-16 °C til -28 °C	Kan brukes frem til den angitte utløpsdatoen
åpnet	-16 °C til -28 °C	3 tine-fryse-sykluser

Tabell 2:Oppbevaringsforhold og informasjon

6. Nødvendige reagenser som ikke medfølger

6.1 Reagenser

Ingen.

6.2 Laboratorieutstyr

Følgende utstyr er nødvendig for å utføre RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV-testen:

Utstyr
Sanntids-PCR-instrument: LightCycler [®] 480 II (Roche)
Forbruksvarer for sanntids-PCR (plater (lav profil, hvite brønner, klar ramme), reaksjonsglass, folier)
Sentrifuge med rotor for plater/reaksjonsglass
Vortekser
Pipetter (0,5 - 20 μL, 20 - 200 μL, 100 - 1000 μL)
Pipettespisser med filter
Pulverfrie engangshansker

For spørsmål, vennligst kontakt R-Biopharm AG på pcr@r-biopharm.de

7. Advarsler og forsiktighetsregler for brukerne

Kun for in vitro-diagnostisk bruk.

Denne testen må kun utføres av kvalifisert laboratoriepersonell. Retningslinjene for arbeid i medisinske laboratorier må følges.

Brukerhåndboken må alltid følges nøye ved utførelse av denne testen.

Ikke pipettér prøver eller reagenser med munnen. Unngå kontakt med ødelagt hud og slimhinner.

Bruk personlig verneutstyr (passende hansker, labfrakk, vernebriller) når du håndterer reagenser og prøver, og vask hendene etter at testen er fullført.

Ikke røyk, spis eller drikk i områder der prøver behandles.

Separate rom, spesialklær og instrumenter for ekstraksjon, PCR-klargjøring og PCR må brukes for å forhindre krysskontaminering og falsk-positive resultater.

Kliniske prøver må betraktes som potensielt smittsomme og må avhendes på en hensiktsmessig måte, i likhet med alle reagenser og materialer som kommer i kontakt med potensielt smittefarlige prøver.

Ikke bruk settet etter utløpsdatoen. Brukerne er ansvarlige for riktig avhending av alle reagenser og materialer etter bruk. Følg nasjonale forskrifter for avhending.

Ytterligere informasjon på sikkerhetsdatabladet (Safety Data Sheet, SDS) finner du under varenummeret på https://clinical.r-biopharm.com/search/.

For brukere i Den europeiske union: Rapporter alle alvorlige bivirkninger forbundet med produktet til R-Biopharm AG og de relevante nasjonale myndighetene.

8. Protokoll for generering av en fargekompensasjonsfil på LightCycler[®] 480 II

8.1 Klargjøring av fargekompensasjon

Tin, bland og sentrifuger reagensene kort før bruk. Avkjøl alltid alle reagenser under arbeidstrinnene (2 °C til -8 °C). For en fargekompensasjonskjøring, pipettér fem reaksjoner med 20 μ L av hvert fargestoff inkludert bakgrunnen (Blank) inn i en mikrotiterplate (s. Fig. 1).



Figur 1: Pipetteringsskjema for fargekompensasjon på LightCycler[®] 480 II.

Settkode	Reagens	Antall per reaksjon	Pipetter 20 µL hver i følgende brønner
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

 Tabell 3:
 Klargjøring av fargekompensasjon for LightCycler[®] 480 II

Etter pipettering av reagensene forsegler du mikrotiterplaten med optisk folie og sentrifugerer om mulig. Start sanntids-PCRen i henhold til enhetsinnstillingene.

8.2 PCR-instrumentoppsett

- *Merk:* Logg deg på programvaren som administrator for å konfigurere deteksjonsformatet.
- **1.** Etter å ha åpnet programvaren, klikk på "**Tools**"-ikonet for å programmere deteksjonsformatet (se følgende figur).



 Følgende vindu åpnes. I Tools-vinduet, velg "Detection Formats". Klikk på "New"knappen for å opprette et nytt deteksjonsformat (se fane. 4) og lagre det som "RIDA®GENE" (se følgende figur).



 Tabell 4:
 Deteksjonskanaloppsett for LightCycler[®] 480 II

Filterkombinasjo	n
440 / 488	
465 / 510	
533 / 580	
533 / 610	
618 / 660	

Merk: Sett verdien for Quant Factor, Melt Factor og Integration Time til 1 (standard). Klikk på "**Close**"-knappen for å gå ut av Tools-vinduet. **3.** Etter programmering av deteksjonsformatet, klikk på "**New Experiment**"-knappen (se følgende figur).



4. Velg "**RIDA**[®]**GENE**"-deteksjonsformatet og angi et reaksjonsvolum på 20 μL (standard) (se følgende figur).

Window:	New Experiment			×	User: System Admin	
Experi-		Run Protocol	Data		Run Notes	
ment	Detection Format RIDASGENE			Customize Block Size	96 Plate ID Reaction Volu	m 20 🛨
Subset Editor	Color Comp ID		Lot No	Test ID		

5. Programmer varmeprofilen (se fane. 5).

Tabell 5:Termisk 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	00:00:30	4,4				
Cycling	5 / Quantification	95	none	00:00:15	4,4				
	J / 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*				

Merk: Påse at antall "Cycles" og "Analysis Mode" er korrekt.

* Rampehastigheten kan variere noe avhengig av detektorformatet som er valgt.

6. Etter at programmeringen er fullført, bør eksperimentet se ut som følger (se følgende figur).



7. For å programmere oppsettet av mikrotiterplaten, bytt til "Subset Editor". Klikk på "Plus"-ikonet for å opprette en ny delmengde og angi et navn for oppsettet (f.eks. Color Compensation). Trykk og hold Ctrl-tasten og venstre museknapp nede og merk alle brønner som inneholder reagenser i mikrotiterplaten (se fig. 1 og 2). Klikk på "Apply"-knappen for å fullføre delmengden. Skjermen skal vises som følger (se følgende figur).

Instrumen	t: Virtual LightCycler 480 96 System II / Not Conne	ected										Databas	e: My Computer	r (Research)		Roche
Window:	New Experiment										-	User:	System Admi	in		\sim
Ermori	Subsets	New Subse	t 1 settings													
ment	ID Name Analysis Report		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
Subset Editor	2 COIDT Compensati V V								· ·							62
Sample Editor		A														물물
Analysis		в														E
Report				-												
Sum.		C														
		D													-	
		E														С Д
		F														
		G														
		н													Ī	-
									<u>)</u>				Арр	ly Clear	j	
	Apply Template															
\wedge	▲ Warning 13.01.2021 15:21:41 Please at ▲ Warning 13.01.2021 15:21:54 Please at	ctivate an i ctivate an i	nstrument bef nstrument bef	ore setting u ore setting u	p a new run. p a new run.										100 100	0

 Bytt til "Sample Editor". Fra trinn 1: "Select Workflow" velg "Color Comp". I trinn 2: "Select Samples", velg den tidligere angitte delmengden (Color Compensation). For å fullføre oppsettet, velg den tilsvarende dominante kanalen for hver reagens (Blank, Dye 1, Dye 2, Dye 3, Dye 4, Dye 5i feltet "Dominant Channel" (se fane. 6). Velg "Water" for reaksjonene med fargebakgrunnen (Blank) (se følgende figur).



Tabell 6:	Dominant kanal-innstillinger for reagensene (LightCycler [®] 480 I	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. Plasser platen med de forberedte reaksjonene i enheten. Klikk på "**Experiment**" og deretter "**Start Run**" for å starte eksperimentet (se følgende figur).



8.3 Evaluering og oppretting av en fargekompensasjonsfil

1. Etter å ha fullført LightCycler[®]-eksperimentet, klikk på "**Analysis**"-knappen (se følgende figur).



2. Gå til "Color Compensation" i dialogboksen "Create New Analysis". Velg og bekreft den aktuelle delmengden(f.eks. Color Compensation) i dialogboksen som åpnes (se følgende figur).



- 9 Virtual LightCycler 480 96 Sy Roche 2021 CC IV 11188 €]] BRRR 6= 물 (€) ¥ 60 50 440-488 533-580 \bigotimes 59 60 Temperature 69 Ŀ Select Zoom 2 mg Ú Temperatur Filter Comb 440-488 \wedge 0
- 3. Analysen åpnes; klikk på "Calculate" og deretter "Save CC Object" (se følgende figur).

4. Lagre fargekompensasjonsfilen som "**RIDA**[®]**GENE CCIV"** i "**CCC**"-mappen (se følgende figur).

Save Color Compensation	
E-set	
F- D System Admin	
R Experiments	F
Macros	
B Preferences	=
🕀 🔁 Special Data	
men std	
⊞ Templates	
	-
	4
	-
	-
1	
News Real of TV 11188 (CC)	
Manie 2021 (C 1V 11100 (CC)	
Plank	

Denne filen er deretter tilgjengelig for andre LightCycler[®] 480 II-eksperimenter. Oppretting av fargekompensasjonsfilen er nå fullført.

8.4 Bruk av fargekompensasjonsfilen

For å bruke fargekompensasjonsfilen, åpne det gitte RIDA[®]GENE sanntids-PCReksperimentet og last inn ønsket fargekompensasjon under "**Experiment**" "**Data**". I nedtrekksmenyen "**Color Comp (Off)**" velger du "**in Database**" og deretter den lagrede fargekompensasjonsfilen (se fig. 2).



Figur 2: Bruk av fargekompensasjon

Når fargekompensasjonen er valgt, endres "**Color Comp (Off)**"-knappen til "**Color Comp (On)**". Den valgte fargekompensasjonen brukes automatisk på alle filtrene i analysen. RIDA[®]GENE real-time PCR-kjøringen kan nå analyseres som vanlig.

Merk: Fargekompensasjonsfilen er spesifikk for hver LightCycler[®] 480 II. En ny fargekompensasjonsfil er nødvendig hvis enheten skiftes ut eller den optiske enheten repareres.

9. Versjonshistorikk

Versjonsnummer	Avsnitt og betegning
2021-09-09	Tidligere versjon
2022-02-03	Generell revisjon: 4. Medfølgende reagenser 5. Oppbevaringsinstruksjoner 6. Nødvendige reagenser som ikke medfølger 7. Advarsler og forsiktighetsregler for brukerne

10. Symbolforklaring

Generelle symboler

IVD	For <i>in vitro</i> -diagnostisk bruk
	Følg brukerhåndboken
LOT	Batchnummer
	Brukes innen
1	Oppbevaringstemperatur
REF	Artikkelnummer
∑ ∑	Antall tester
٢	Produksjonsdato
•••	Produsent

Testspesifikke symboler

Blank	Blank
Dye 1	Fargestoff 1
Dye 2	Fargestoff 2
Dye 3	Fargestoff 3
Dye 4	Fargestoff 4
Dye 5	Fargestoff 5