

CE

RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV

REF PG0004



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

1. Predvidena uporaba

Za uporabo v *in vitro* diagnostiki. Komplet RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV se uporablja za barvno umerjanje 2- in večpleksnih testov RIDA[®]GENE real-time PCR na instrumentu LightCycler[®] 480 II. Komplet RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV se lahko uporablja za ustvarjanje datoteke barvne kompenzacije, ki omogoča analizo kvalitativnih in kvantitativnih 2- in večpleksnih testov RIDA[®]GENE real-time PCR na instrumentu LightCycler[®] 480 II.

Izdelek je namenjen profesionalni uporabi.

2. Povzetek in razlaga testa

Pri testu PCR v realnem času lahko oddani fluorescenčni signal fluorescenčnega poročevalskega barvila prekrije sosednji barvni kanal in tako ustvari signal (prekrivanje). Prekrivanje zaradi fluorescenčnih signalov lahko povzroči napačne rezultate, če se ne izvede popravek z datoteko barvne kompenzacije. Datoteka barvne kompenzacije lahko kompenzira prekrivanje med barvnimi kanali.

3. Načelo testa

Komplet RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV se uporablja za barvno umerjanje 2- in večpleksnih testov RIDA[®]GENE real-time PCR na instrumentu LightCycler[®] 480 II.

4. Priloženi reagenti

Preglednica 1: Priloženi reagenti (reagenti, ki so priloženi v kompletu, zadostujejo za 3 teste z barvno kompenzacijo.)

Koda kompleta	Reagent	Količina		Barva pokrovčka
1	Blank	1 ×	400 µL	bela, pripravljeno za uporabo
2	Dye 1	1 ×	400 µL	modra, pripravljeno za uporabo
3	Dye 2	1 ×	400 µL	zelena, pripravljeno za uporabo
4	Dye 3	1 ×	400 µL	rumena, pripravljeno za uporabo
5	Dye 4	1 ×	400 µL	oranžna, pripravljeno za uporabo
6	Dye 5	1 ×	400 µL	rdeča, pripravljeno za uporabo

5. Navodila za shranjevanje

- Upoštevajte smernice za ravnanje v preglednici 2 in komplet shranite takoj po uporabi skladno z navedenimi informacijami.
- Vse reagente je treba shranjevati zaščitene pred svetlobo pri temperaturi od
 -16 °C do -28 °C. Če niso odprti, se lahko uporabljajo do roka uporabnosti, natisnjenega na oznaki. Po izreku roka uporabnosti jamstvo za kakovost ni več veljavno.
- Vse reagente je treba pred uporabo previdno odtaliti (npr. v hladilniku pri temperaturi 2–8 °C).
- Do 3-kratna ponovitev zamrzovanja in odtajanja ne vpliva na lastnosti testa.
- Med pripravo za preiskavo PCR vse reagente ustrezno ohladite (2–8 °C).

	Temperatura shranjevanja	Najdaljši čas shranjevanja
neodprto	-16 °C do -28 °C	Uporabi se lahko do natisnjenega roka uporabnosti
odprto	-16 °C do -28 °C	3 cikli odtajanja/zamrzovanja

Preglednica 2: Pogoji shranjevanja in podatki o shranjevanju

6. Potrebni materiali, ki niso priloženi

6.1 Reagenti

Jih ni.

6.2 Laboratorijska oprema

Za izvedbo testa RIDA®GENE Color Compensation Kit IV je potrebna naslednja oprema:

Oprema
Instrument za preiskave PCR v realnem času: LightCycler [®] 480 II (Roche)
Potrošni material za preiskave PCR v realnem času (ploščice (z nizkim profilom, belimi vdolbinicami, prozornim okvirjem), reakcijske viale, filmi)
Centrifuga z rotorjem za ploščice/reakcijske viale
Vrtinčni mešalnik
Pipete (0,5–20 μL, 20–200 μL, 100–1000 μL)
Pipetne konice s filtri
Rokavice za enkratno uporabo brez smukca

Z vprašanji se obrnite na družbo R-Biopharm AG na elektronski naslov pcr@r-biopharm.de.

7. Opozorila in previdnostni ukrepi za uporabnike

Samo za uporabo v *in vitro* diagnostiki.

Ta test sme izvajati samo kvalificirano laboratorijsko osebje. Upoštevati je treba smernice za delo v medicinskih laboratorijih.

Pri izvajanju tega testa vedno natančno upoštevajte uporabniški priročnik.

Vzorcev in reagentov ne pipetirajte z usti. Preprečite stik z razpokano kožo in sluznicami. Pri ravnanju z reagenti in vzorci nosite osebno varovalno opremo (ustrezne rokavice,

laboratorijsko haljo, varnostna očala) ter si po koncu testa umijte roke.

V prostorih ravnanja z vzorci ne kadite ter ne uživajte hrane in pijače.

Za preprečevanje navzkrižne kontaminacije in lažno pozitivnih rezultatov je treba uporabiti ločene prostore, posebna oblačila in instrumente za ekstrakcijo, pripravo za preiskavo PCR ter izvajanje preiskave PCR.

Klinične vzorce je treba obravnavati kot morebitno kužne in jih je treba ustrezno zavreči, tako kot vse reagente in materiale, ki pridejo v stik z morebitno kužnimi vzorci.

Kompleta ne uporabljajte po izteku roka uporabnosti. Uporabniki so odgovorni za ustrezno odstranjevanje vseh reagentov in materiala po uporabi. Pri odstranjevanju upoštevajte nacionalne predpise.

Dodatne podrobnosti o varnostnem listu (Safety Data Sheet, SDS) najdete pod številko artikla na spletni strani https://clinical.r-biopharm.com/search/.

Za uporabnike v Evropski uniji: O vseh resnih neželenih dogodkih, povezanih z izdelkom, poročajte družbi R-Biopharm AG in ustreznim nacionalnim organom.

8. Protokol za ustvarjanje datoteke barvne kompenzacije na instrumentu LightCycler[®] 480 II

8.1 Priprava barvne kompenzacije

Reagente pred uporabo odmrznite, premešajte in na kratko centrifugirajte. Med delovnimi koraki vedno ohladite vse reagente (od 2 °C do -8 °C). Za izvedbo barvne kompenzacije pipetirajte pet reakcij z 20 µL vsakega barvila, vključno z ozadjem (Blank), na mikrotitrsko ploščico (glejte sliko 1).



Slika 1: Shema pipetiranja za barvno kompenzacijo na instrumentu LightCycler[®] 480 II.

Koda kompleta	Reagent	Količina na reakcijo	Pipetirajte po 20 μL v naslednje vdolbinice
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

Prealednica 3:	Prinrava	harvne	kompenzaci	ie za	l iahtCv	/cler®	480	Ш
riegieunica J.	Fliplava	Daivine	KUIIIpelizaci	je za	LIGHTO		400	ш

Po pipetiranju reagentov mikrotitrsko ploščico zaprite z optično folijo in po možnosti centrifugirajte. Zaženite test PCR v realnem času skladno z nastavitvami pripomočka.

8.2 Nastavitev instrumenta PCR

Opomba: Prijavite se v programsko opremo kot skrbnik in nastavite obliko zaznavanja.

1. Potem ko odprete programsko opremo, kliknite ikono »**Tools**«, da programirate obliko zaznavanja (glejte sliko spodaj).



 Odprlo se bo naslednje okno. V oknu Tools izberite »Detection Formats«. Kliknite gumb »New«, da ustvarite novo obliko zaznavanja (glejte pregl. 4) in jo shranite kot »RIDA®GENE« (glejte preglednico spodaj).



Preglednica 4: Nastavitev kanala za zaznavanje za instrument LightCycler® 480 II

Kombinacija filtrov
440/488
465/510
533/580
533/610
618/660

Opomba: Nastavite vrednosti za Quant Factor, Melt Factor in Integration Time na 1 (privzeto).

Kliknite gumb »Close«, da zaprete okno Tools.

3. Potem ko programirate obliko zaznavanja, kliknite gumb »**New Experiment**« (glejte sliko spodaj).



4. Izberite obliko zaznavanja »**RIDA[®]GENE**« in vnesite volumen reakcije 20 μL (privzeta vrednost) (glejte sliko spodaj).

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

5. Programirajte toplotni profil (glejte pregl. 5).

Preglednica 5: Toplotni 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				
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*				

Opomba: Prepričajte se, da sta vrednosti »**Cycles**« in »**Analysis Mode**« pravilni.

* Hitrost temperaturne spremembe se lahko nekoliko razlikuje glede na izbrano obliko zaznavanja.

	Run Pro	locol		Data			Run Notes	
etup					10	Olash Clas	01-11-10	Departure Maluman 172
etection Format	RIDARGENE		(stomize Block Size 96	Plate ID	Reaction volume 20
olor Comp ID			Lot No		Test I	0		
				Programs				
Program Na	me							Cycles Analysis Mode
Initial D	enat.							1 None
TX-hpalve								S Quantification
) IN-AMALYS	-							1 - COLOT COMPENSACION
				TM.Analyse Temperature	[argets			
Т	arget (*C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (*C/s)	Acquisitions (per *C)	Sec Target (*C)	Step Size ("C)	Step Delay (cycles)
2								
95	None		• 00:00:01	4,4		÷		
-	None		00:00:01	2,2	1			-
0	Conti	nuous		.0,11	. ▲			×
2	-Jones	nuous		Overview	4		•	•
100 55 50 80 85 80 75 75 55 55 55 55				Up al Contraction of the second secon				

6. Po končanem programiranju mora biti videz eksperimenta takšen (glejte sliko spodaj).

7. Če želite programirati postavitev na mikrotitrski ploščici, preklopite na »Subset Editor«. Kliknite ikono »Plus«, da ustvarite nov podnabor in vnesete ime za postavitev (npr. Color Compensation). Pritisnite in držite tipko Ctrl in levi gumb miške ter označite vse vdolbinice na mikrotitrski ploščici, ki vsebujejo reagente (glejte sliki 1 in 2). Kliknite gumb »Apply«, da dokončate podnabor. Prikazati se mora naslednji zaslon (glejte sliko spodaj).

Instrumen	t: Virtual LightCycler 480 96 System II / Not Conne	ected								Databas	e: My Compute	r (Research)		Roche
Window:	New Experiment								-	User:	System Adm	in		
Experi- ment	Subsets ID Name Analysis Report	New St	bset 1 settings			E	7			10		10	X	2]
Subset Editor	2 Color Compensati 🖌 🖌				3		 ,	•	3	10		12	<u> </u>	6=
Sample Editor		A												
Analysis		в												
Report		c												
Sum.			-			 								\Diamond
		D	_										<u> </u>	$\overline{\otimes}$
		E												Ъ
		F												<i></i>
		G												
		н											Ē	
											Арг	oly Clear	Cancel	
	Apply Template					 								
\wedge	▲ Warning 13.01.2021 15:21:41 Please at ▲ Warning 13.01.2021 15:21:54 Please at	otivate a otivate a	n instrument be n instrument be	fore setting u fore setting u	p a new run. p a new run.								100 •	0

8. Preklopite na »Sample Editor«. V 1. koraku: V meniju »Select Workflow« izberite »Color Comp«. V 2. koraku: »Select Samples« izberite predhodno nastavljeni podnabor (Color Compensation). Postavitev dokončate tako, da v polju »Dominant Channel izberete ustrezni vodilni kanal za vsak reagent (prazno, barvilo 1, barvilo 2, barvilo 3, barvilo 4, barvilo 5) (glejte pregl. 6). Za reakcije z barvnim ozadjem (Blank) izberite možnost »Water« (glejte sliko spodaj).



Preglednica 6:	Nastavitve vodilnega	kanala za reagente	(LightC	vcler [®] 480 II)
	5	5			

Reagent	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. Ploščico s pripravljenimi reakcijami postavite v pripomoček. Kliknite »**Experiment**« in nato »**Start Run**«, da sprožite izvajanje eksperimenta (glejte sliko spodaj).



8.3 Ocena in ustvarjanje datoteke barvne kompenzacije

1. Po zaključku eksperimenta LightCycler[®] kliknite gumb »Analysis« (glejte sliko spodaj).



 V pogovornem oknu »Create New Analysis« pojdite na možnost »Color Compensation«. V pogovornem oknu, ki se odpre, izberite in potrdite ustrezni podnabor (npr. Color Compensation) (glejte sliko spodaj).



3. Analiza se odpre; kliknite »Calculate« in nato »Save CC Object« (glejte sliko spodaj).



 Datoteko barvne kompenzacije shranite kot »RIDA[®]GENE CCIV« v mapo »CCC« (glejte sliko spodaj).

See Color Compensation		
And Control Control Control Image: State Advin Image: State Advin Image: State Advin Image	Save Color Compensation	
Float System Admin Preprimers Macros Preprimers South Jong <	ave color compensation	
Rod Experiments Profeences StdCuve Temptaes		
System Adm B System Adm Macros B Social Mate Social Mater Social Mate	Root	
Begements Perferences Std Curve Templates	🖌 🖻 🦳 System Admin	
Marcis Special Mars Special Mars Static Curve B Templates	Experiments	-
Name 2021 CC IV 11188 (CC)	Macros	
Name 2021 CC IV 11188 (CC)	Preferences	E
Marsid G Guey B Templates B 2021 CC IV 11188 (CC)	🔁 🔁 Special Data	
Merey Std Curve B Tempbeles		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)	Mett Std	
Sid Curve B-1 Templates Name 2021 CC IV 11188 (CC)	- Duery	
B+T Templates	Std Curve	
Name 2021 CC IV 11188 (CC)	- Templates	
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)	14	
Name 2021 CC IV 11188 (CC)	ie la	
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)	it is a second se	
Name 2021 CC IV 11188 (CC)	1	
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		L
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		4
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		F
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		_
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		T T
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
Name 2021 CC IV 11188 (CC)		
	Name 2021 CC IV 11188 (CC)	

Ta datoteka je nato na voljo še za druge eksperimente z instrumentom LightCycler[®] 480 II. Ustvarjanje datoteke barvne kompenzacije je zdaj končano.

8.4 Uporaba datoteke barvne kompenzacije

Datoteko barvne kompenzacije uporabite tako, da odprete zadevni test RIDA[®]GENE realtime PCR in naložite želeno barvno kompenzacijo v meniju »**Experiment**« »**Data**«. V spustnem meniju »**Color Comp (Off)**« izberite »**in Database**« in nato shranjeno datoteko barvne kompenzacije (glejte sliko 2).



Slika 2: Uporaba barvne kompenzacije

Ko je barvna kompenzacija izbrana, se gumb »**Color Comp (Off)**« spremeni v »**Color Comp (On)**«. Izbrana barvna kompenzacija se samodejno uporabi za vse filtre analize. Test RIDA[®]GENE real-time PCR je zdaj mogoče analizirati kot običajno.

Opomba: Datoteka barvne kompenzacije je specifična za vsak LightCycler[®] 480 II. Če pripomoček zamenjate ali popravite optično enoto, potrebujete novo datoteko barvne kompenzacije.

9. Zgodovina različic

Številka različice	Del in oznaka
2021-09-09	Prejšnja različica
2022-02-03	Splošna revizija: 4. Priloženi reagenti 5. Navodila za shranjevanje 6. Potrebni materiali, ki niso priloženi 7. Opozorila in previdnostni ukrepi za uporabnike

10. Razlaga simbolov

Splošni simboli

Za uporabo v <i>in vitro</i> diagnostiki
Upoštevajte uporabniški priročnik
Serijska številka
Rok uporabnosti
Temperatura shranjevanja
Številka artikla
Število testov
Datum izdelave
Proizvajalec

Za test specifični simboli

Blank	Prazno
Dye 1	Barvilo 1
Dye 2	Barvilo 2
Dye 3	Barvilo 3
Dye 4	Barvilo 4
Dye 5	Barvilo 5