

RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV

REF PG0004



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

1. Kullanım amacı

İn vitro tanı amaçlı kullanım içindir. RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV, LightCycler[®] 480 II üzerinde 2 pleks renk kalibrasyonu ve daha yüksek RIDA[®]GENE real-time PCR çalışmaları için kullanılır. RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV, LightCycler[®] 480 II üzerinde kalitatif ve kantitatif 2 pleks ve daha yüksek RIDA[®]GENE real-time PCR testlerinin analiz edilmesini sağlayacak bir renk telafi dosyası oluşturmakta kullanılabilir.

Ürün, profesyonel kullanıma yöneliktir.

2. Testin özeti ve açıklaması

Bir gerçek zamanlı PCR'de, yayılan floresan haberci boyasının floresan sinyali, bitişik bir renk kanalının üzerine binebilir ve böylece bir sinyal (parazit) üretebilir. Floresan sinyallerden gelen parazitler, bir renk telafi dosyasıyla düzeltme yapılmazsa, yanlış sonuçlara neden olabilir. Bir renk telafi dosyası, renk kanalları arasındaki paraziti telafi edebilir.

3. Test prensibi

RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV, LightCycler[®] 480 II üzerinde 2 pleks renk kalibrasyonu ve daha yüksek RIDA[®]GENE real-time PCR çalışmaları için kullanılır.

4. Sağlanan reaktifler

 Tablo 1:
 Sağlanan reaktifler (Kitte sağlanan reaktifler 3 renk telafi çalışması için yeterlidir.)

Kit kodu	Reaktif	M	liktar	Kapak rengi
1	Blank	1 ×	400 µL	beyaz, kullanıma hazır
2	Dye 1	1 ×	400 µL	mavi, kullanıma hazır
3	Dye 2	1 ×	400 µL	yeşil, kullanıma hazır
4	Dye 3	1 ×	400 µL	sarı, kullanıma hazır
5	Dye 4	1 ×	400 µL	turuncu, kullanıma hazır
6	Dye 5	1 ×	400 µL	kırmızı, kullanıma hazır

2

5. Saklama talimatları

- Lütfen Tablo 2'deki kullanma ilkelerini izleyin ve kiti kullandıktan hemen sonra belirtilen bilgilere göre saklayın.
- Tüm reaktifler güneş ışığından uzakta, -16 °C ila 28 °C'de saklanmalıdırlar ve açılmamış halde, etikette basılı son kullanma tarihine kadar kullanılabilirler. Son kullanma tarihinden sonra, kalite garantisi artık geçerli değildir.
- Tüm reaktifler kullanılmadan önce dikkatle çözülmelidir (örneğin, bir buzdolabında 2 8 °C'de).
- 3 defaya kadar tekrarlanan dondurmanın ve çözmenin test özelliklerine bir etkisi yoktur.
- PCR hazırlığı sırasında tüm reaktifleri uygun şekilde soğutun (2 8 °C).

	Saklama sıcaklığı	Maksimum saklama süresi
açılmamış	-16 °C ila -28 °C	Basılı son kullanma tarihine kadar kullanılabilir
açılmış	-16 °C ila -28 °C	3 çözme-dondurma döngüsü

Tablo 2: Saklama koşulları ve bilgileri

6. Gerekli olan ama sağlanmayan reaktifler

6.1 Reaktifler

Yoktur.

6.2 Laboratuvar ekipmanları

Aşağıdaki ekipmanlar, RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV testini gerçekleştirmek için gereklidir:

Ekipman
Gerçek Zamanlı PCR aleti: LightCycler [®] 480 II (Roche)
Gerçek zamanlı PCR sarf malzemeleri (plakalar (düşük profilli, beyaz kuyucuklu, şeffaf çerçeveli), reaksiyon flakonları, filmler)
Plakalar / reaksiyon flakonları için rotorlu santrifüj
Vorteks cihazı
Pipetler (0,5 - 20 μL, 20 - 200 μL, 100 - 1000 μL)
Filtreli pipet uçları
Tek kullanımlık pudrasız eldivenler

Sorularınız için, lütfen R-Biopharm AG'yi pcr@r-biopharm.de adresinden arayın.

7. Kullanıcılar için uyarılar ve önlemler

Yalnızca in vitro tanı amaçlı kullanım içindir.

Bu test, sadece yetkili laboratuvar personeli tarafından gerçekleştirilmelidir. Tıbbi laboratuvarlarda çalışma yönergelerine uyulmalıdır.

Bu testi gerçekleştirirken çalıştırma kılavuzuna her zaman kesinlikle uyun. Örnekleri veya reaktifleri ağzınızı kullanarak pipetlemeyin. Yaralı ciltle veya mukoz

membranlarla temasını önleyin.

Reaktifleri ve örnekleri kullanırken kişisel koruyucu ekipmanlar (uygun eldivenler, laboratuvar önlüğü, güvenlik gözlükleri) kullanın ve testi bitirdikten sonra ellerinizi yıkayın. Örneklerin kullanılmakta olduğu alanlarda sigara içmeyin, bir şey yemeyin veya içmeyin. Çapraz kontaminasyonu ve yalancı pozitif sonuçları önlemek amacıyla ekstraksiyon, PCR

hazırlama ve PCR için ayrı odalar, özel giysiler ve aletler kullanılmalıdır.

Klinik örnekler, potansiyel olarak enfeksiyöz kabul edilmeli ve potansiyel olarak enfeksiyöz örneklerle temas eden tüm reaktifler ve malzemeler gibi uygun şekilde bertaraf edilmelidir. Kiti, son kullanma tarihinden sonra kullanmayın. Kullanıcılar, kullanıldıktan sonra tüm reaktiflerin ve materyallerin uygun şekilde bertarafından sorumludur. Bertaraf için, lütfen ulusal yönetmeliklere uyun.

Güvenlik Veri Formlarına (Safety Data Sheet, SDS) ilişkin daha fazla ayrıntı, https://clinical.r-biopharm.com/search/ adresindeki öğe numarasında bulunmaktadır.

Avrupa Birliği'ndeki kullanıcılar için: Ürünle ilişkili tüm ciddi advers olayları R-Biopharm AG ve uygun ulusal makamlara bildirin.

8. LightCycler[®] 480 II üzerinde bir renk telafi dosyası oluşturmak için protokol

8.1 Renk Telafisi hazırlama

Kullanmadan önce reaktifleri çözün, karıştırın ve kısa süreyle santrifüjleyin. Çalışma adımları sırasında tüm reaktifleri her zaman soğutun (2 °C ila -8 °C). Bir renk telafi çalışması için, arka plan (Blank) dahil, her biri 20 µL boyalı beş reaksiyonu bir mikrotitrasyon plakasına (bkz. Şekil 1) pipetleyin.



Şekil 1: LightCycler[®] 480 II üzerinde renk telafisi için pipetleme düzeni.

Kit kodu	Reaktif	Reaksiyon başına miktar	Aşağıdaki kuyucukların her birine 20 μL pipetleyin
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

 Tablo 3:
 LightCycler[®] 480 II için renk telafi hazırlığı

Reaktifleri pipetledikten sonra, mikro-titrasyon plakasını optik folyoyla mühürleyin ve mümkünse santrifüjleyin. Gerçek zamanlı PCR'yi cihazın ayarlarına göre başlatın.

8.2 PCR alet kurulumu

- *Not:* Saptama biçimini ayarlamak için yazılımda yönetici olarak oturum açın.
- **1.** Yazılımı açtıktan sonra, saptama biçimini programlamak için "**Tools**" simgesine tıklayın (aşağıdaki şekil).



 Aşağıdaki pencere açılır. Tools penceresinde, "Detection Formats" seçimini yapın. Yeni bir saptama biçimi oluşturmak için "New" düğmesine tıklayın ve (bkz. Tablo 4) ve "RIDA®GENE" olarak kaydedin (aşağıdaki şekle bakın).



 Tablo 4:
 LightCycler[®] 480 II için saptama kanalı ayarı

Filtre kombinasyonu
440 / 488
465 / 510
533 / 580
533 / 610
618 / 660

Not: Quant Factor, Melt Factor ve Integration Time öğeleri için değeri 1 (varsayılan) olarak ayarlayın.

Tools penceresinde çıkmak için "Close" düğmesine tıklayın.

3. Saptama biçimini programladıktan sonra, "**New Experiment**" düğmesine tıklayın (aşağıdaki şekle bakın).



4. "**RIDA**[®]**GENE**" saptama biçimini seçin ve 20 μL (varsayılan) şeklinde bir reaksiyon hacmi girin (aşağıdaki şekle bakın).

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

5. Thermal profile'ı (Termal profil) programlayın (bkz. Tablo 5).

		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				
	5 / Quantineation	60	single	00:00:30	2,2				
		95	none	00:00:01	4,4				
TM Analysis	1 / Color	50	none	00:00:30	2,2				
	Compensation	70	continuous		Acquisitions (per °C) = 1 0.14*				

Not: "Cycles" ve "Analysis Mode" rakamının doğruluğundan emin olun.

* Rampa hızı, seçilen saptama biçimine bağlı olarak çok az değişkenlik gösterebilir.

8

6. Programlama tamamlandıktan sonra, deney aşağıdaki gibi görünecektir (aşağıdaki şekle bakın).



7. Mikro-titrasyon plakasının düzenini programlamak için, "Subset Editor" öğesine geçin. Yeni bir alt küme oluşturmak için "Plus" simgesine tıklayın ve bir düzen (örn., Color Compensation) girin. Ctrl tuşunu ve sol fare düğmesini basılı tutun ve mikro-titrasyon plakasında reaktif içeren tüm kuyucukları işaretleyin (bkz. Şekil 1 ve 2). Alt kümeyi bitirmek için "Apply" düğmesine tıklayın. Ekran aşağıdaki gibi görünecektir (aşağıdaki şekle bakın).

Instrumen	ument: Virtual LightCycler 489 96 System II / Not Connected Database: My Computer (Research)																
Window:	New Experiment											-	User:	System Adm	in		Inocine
	- Subsets	-New S	Subset 1	settings													
Experi- ment Subset Editor	D Name Analysis Report 2 Color Compensati ♥ ♥			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 1	Ð
Sample Editor		4	٩														
Analysis		Ę	B														(
Report			-														
Sum.																	\Diamond
			,													ŕ	\otimes
		E	E														Ŀ
		;	F														1
		G	3														
		ŀ	H													Ī	
			4			1	1			a la							
			-							<u>_</u> ,				Арг	ly Clear	<u>Cancel</u>)
	Apply Template							•									
\land	A Warning 13.01.2021 15:21:41 Flease activate an instrument before setting up a new run.																

8. "Sample Editor" öğesine geçin. 1. Adımdan: "Select Workflow" ve "Color Comp" öğelerini seçin. 2. Adımda: "Select Samples" öğesinde daha önce ayarlanmış alt kümeyi (Color Compensation) seçin. Düzeni bitirmek için, her bir reaktif için (Blank, Dye 1, Dye 2, Dye 3, Dye 4, Dye 5) denk düşen hakim kanalı "Dominant Channel" alanında seçin (bkz. Tablo 6). Renk arka planlı (Blank) reaksiyonlar için lütfen "Water" öğesini seçin (aşağıdaki şekle bakın).



 Tablo 6:
 Reaktifler için Hakim Kanal ayarları (LightCycler[®] 480 II)

Reaktif	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. Plakayı, hazırlanan reaksiyonlarla birlikte cihaza yerleştirin. Deneyi başlatmak için "**Experiment**" ve ardından "**Start Run**" öğesine tıklayın (aşağıdaki şekle bakın).



8.3 Değerlendirme ve bir renk telafi dosyası oluşturma

1. LightCycler[®] deneyini tamamladıktan sonra, "**Analysis**" düğmesine tıklayın (aşağıdaki şekle bakın).



 "Create New Analysis" iletişim kutusunda, "Color Compensation" öğesine gidin. Açılan iletişim kutusunda (aşağıdaki şekle bakın) uygun alt kümeyi (örneğin, Color Compensation) seçin ve onaylayın.



3. Analiz açılır; **"Calculate"** ve ardından **"Save CC Object"** öğesine tıklayın (aşağıdaki şekle bakın).



4. Renk telafi dosyasını, "**RIDA[®]GENE CCIV**" olarak "**CCC**" klasörüne kaydedin (aşağıdaki şekle bakın).

Save Color Compensation	
Rect	
Sustan Admin	
Marca	
lame 2021 CC IV 11188 (CC)	

Böylece bu dosya, başka LightCycler[®] 480 II deneyleri için kullanılabilir olur. Renk telafi dosyasını oluşturma işlemi tamamlanmış olur.

8.4 Renk telafi dosyasını kullanma

Renk telafi dosyasını kullanmak için, verili RIDA[®]GENE real-time PCR deneyini açın ve istediğiniz renk telafisin**i "Experiment" "Data"** öğesinin altında yükleyin. "Color Comp (Off)" açılır menüsünde, "**in Database"** öğesini seçin ve ardından kaydedilmiş renk telafi dosyasını seçin (bkz. Şekil 2).



Şekil 2: Renk Telafi Dosyasını Kullanma

Renk telafisi seçildiğinde, "**Color Comp (Off)**" düğmesi "**Color Comp (On)**" şeklinde değişir Seçilen renk telafisi, analizin tüm filtrelerine otomatik olarak uygulanır. RIDA[®]GENE real-time PCR çalışması artık olağan şekilde analiz edilebilir.

Not: Renk telafi dosyası, her LightCycler[®] 480 II'ye özgüdür. Cihaz değiştirilirse veya optik ünite tamir edilirse, Yeni bir renk telafi dosyası gerekli olur.

9. Sürüm geçmişi

Sürüm numarası	Bölüm ve adlandırma
2021-09-09	Önceki sürüm
2022-02-03	Genel revizyon: 4. Sağlanan reaktifler 5. Saklama talimatları 6. Gerekli olan ama sağlanmayan reaktifler 7. Kullanıcılar için uyarılar ve önlemler

10. Simgelerin açıklamaları

Genel simgeler

IVD	<i>İn vitro</i> tanı amaçlı kullanım içindir
[]i	Kullanım kılavuzuna uyun
LOT	Parti numarası
R	Son kullanma tarihi
X	Saklama sıcaklığı
REF	Madde numarası
\ <u>₹</u>	Test sayısı
\sim	Üretim tarihi
	Üretici firma

Teste özel simgeler

Blank	Boş
Dye 1	Boya 1
Dye 2	Boya 2
Dye 3	Boya 3
Dye 4	Boya 4
Dye 5	Boya 5