

EZ1[®] DSP DNA Blood rinkinio vadovas



3 versija



In vitro diagnostiniam naudojimui.



62124



1054989LT



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, VOKIETIJA

R5

MAT

1054989LT



QIAGEN mėginių ėmimo ir bandymų technologijos

QIAGEN yra pagrindinis inovacinių mėginių ėmimo ir bandymo technologijų, leidžiančių izoliuoti ir aptikti bet kokio biologinio mėginio turinį, tiekėjas. Mūsų sudėtingi, aukštos kokybės produktai ir paslaugos užtikrina, kad iš mėginio gausite sėkmingus rezultatus.

QIAGEN nustato šiuos standartus:

- DNR, RNR ir proteinų išgryninimo;
- Nukleino rūgštis ir proteinų bandymų;
- Mikro RNR tyrimo ir RNRi;
- Mėginių ėmimo ir bandymų technologijų automatizavimo.

Mūsų tikslas yra padėti jums pasiekti didžiulės sėkmės ir laimėjimų. Daugiau informacijos rasite www.qiagen.com.

Turinys

Rinkinio turinys	4
Simboliai	4
Laikymas	5
Numatomas naudojimas	5
Produkto naudojimo apribojimai	6
Techninė pagalba	6
Įspėjimai ir atsargumo priemonės	6
Kokybės kontrolė	8
Įvadas	9
Principas ir procedūra	9
EZ1 DSP DNA Blood sistemos veikimo charakteristika	9
Vartotojui tiekiami įranga ir reagentai	25
Svarbios pastabos	27
Kraujo mėginių laikymas	27
Nuosėdos reagento kasetėje (RCB)	27
Darbas su EZ1 instrumentais	27
Protokolas: Genominių DNR iš viso kraujo išgryninimas naudojant EZ1 Advanced XL	34
Protokolas: Genominių DNR iš viso kraujo išgryninimas naudojant EZ1 Advanced (su V2.0 kortele)	37
Protokolas: Genominių DNR iš viso kraujo išgryninimas naudojant EZ1 Advanced (su V1.0 kortele)	40
Protokolas: Genominių DNR iš viso kraujo išgryninimas naudojant BioRobot EZ1 DSP	43
Gedimų lokalizavimas	45
A priedas: Ekrane rodomi pranešimai	47
B priedas: DNR laikymas, kiekio apskaičiavimas ir grynumo nustatymas	70
C priedas: Mėginių lapas, skirtas naudoti su EZ1 DSP DNA Blood sistema	72
D priedas: EZ1 Advanced ataskaitos failo pavyzdys	73
Užsakymo informacija	75

Rinkinio turinys

EZ1 DSP DNA Blood rinkinys			(48)
Katalogo nr.			62124
Ruošinių skaičius			48
RCB	Reagentų kasetės, kraujo, 350 µl*	REAG CART BLOOD	48
DTH	Vienkartinių antgalių laikikliai	DISP TIP HOLD	50
DFT	Vienkartiniai filtrų antgaliai	DISP FILT TIP	50
ST	Mėginių mėgintuvėliai (2 ml)	SAMP TUBE	50
ET	Išplovimo mėgintuvėliai (1.5 ml)	ELU TUBE	50
	Q-kortelė [†]		1
	Vadovas	H B	1

* Yra natrio azido kaip konservanto. Yra guanidino druskos. Nesuderinamas su dezinfekcinėmis priemonėmis, kuriose yra baliklio. Daugiau saugumo informacijos rasite **Fehler! Textmarke nicht definiert.** puslapyje.

[†] Informacija, užkoduota brūkšniniame kode ant Q-kortelės, yra reikalinga reagentų duomenų atsekimui su EZ1 Advanced ar EZ1 Advanced XL instrumentu.

Simboliai

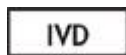


48

Yra reagentų 48 mėginių ruošinams



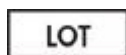
Naudoti iki



In vitro diagnostinis medicininis prietaisas



Katalogo numeris



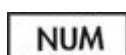
Partijos numeris



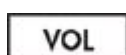
Medžiagos numeris



Komponentai



Numeris



Kiekis



Temperatūros apribojimai



Oficialus gamintojas



Svarbi pastaba



Naudoti tik su



Įeina



Guanidino izotiocianatas



Guanidino hidrochloridas



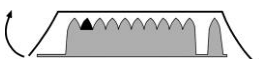
Etanolis



Visuotinis prekinio vieneto numeris



Atidaryti pristačius; laikyti reagentų kasetes (RCB) 2–8°C



Atidarant ši pusė turi būti žemyn

Laikymas

Laikykite reagentų kasetes (RCB) ataušintas 2–8°C. Magnetinės dalelės reagentų kasetėse (RCB) laikant šioje temperatūroje išlieka aktyvios. Nešaldykite reagentų kasečių (RCB). Laikant 2–8°C, reagentų kasetės (RCB) išlieka stabilios iki ant etiketės ir ant rinkinio dėžutės nurodytos galiojimo datos pabaigos. Kai reagentų kasetės (RCB) nebelaikomos ataušintos, jas galima laikyti 15–25°C, bet reikia sunaudoti per 4 savaites arba iki ant etiketės, Q-kortelės arba rinkinio dėžutės nurodytos galiojimo datos pabaigos, kuri iš jų bus pirma.

Laikymo metu buferiai reagentų kasetėje (RCB) (1 šulinėlyje) gali suformuoti nuosėdas. Prieš naudojimą išbalansuojant reagentų kasetėje (RCB) iki kambario temperatūros. Prieš naudojimą patikrinkite ir ištirpinkite nuosėdas, kaip aprašyta “Nuosėdos reagento kasetėje (RCB)”, 27 psl.

Numatomas naudojimas

EZ1 DSP DNA Blood rinkinyje naudojama magnetinių dalelių technologija, skirta automatizuotam žmonių biologinių mėginių DNR izoliavimui ir išgryninimui.

Šį produktą privalo naudoti tik profesionalūs vartotojai, pvz., technikai ir gydytojai, apmokyti molekulinę biologinę techniką.

EZ1 DSP DNA Blood sistema yra skirta in vitro diagnostiniam naudojimui.

Produkto naudojimo apribojimai

Vartotojas atsakingas už tai, kad patvirtintų sistemos veikimą per bet kokias laboratorijoje atliekamas procedūras, kurios nėra nurodytos QIAGEN veikimo vertinimo tyrimuose.

Sistemos veikimas buvo nustatytas veikimo vertinimo tyrimuose, naudojant žmogaus visą kraują genominių DNR izoliavimui.

Norint iki minimumo sumažinti neigiamos įtakos diagnostiniams rezultatams riziką, reikia naudoti atitinkamas kontroles, skirtas pasroviniams pritaikymams. Siekiant tolesnio patvirtinimo, rekomenduojamos Tarptautinės techninių reikalavimų suderinimo konferencijos (ICH) *ICH Q2(R1) Analitinių procedūrų patvirtinimas: tekstas ir metodika* nuorodos.

Bet kokius gautus diagnostinius rezultatus reikia interpretuoti kartu su kitais klinikiniais ar laboratoriniais rezultatais.

Techninė pagalba

QIAGEN didžiuojasi savo techninės pagalbos kokybe ir prieinamumu. Mūsų techninės pagalbos skyriuose dirba patyrę mokslininkai, turintys daug praktinių ir teorinių žinių apie bandymų ir mėginių ėmimo technologijas bei QIAGEN produktų naudojimą. Jeigu jūs turite klausimų arba jums iškilo sunkumų, susijusių su EZ1 DSP DNA Blood rinkiniu ar apskritai QIAGEN® produktais, prašom drąsiai su mumis susisiekti.

QIAGEN klientai yra pagrindinis su mūsų produktų sudėtingu ar specializuotu naudojimui susijusios informacijos šaltinis. Ši informacija yra naudinga kitiems mokslininkams bei QIAGEN tyrėjams. Todėl skatiname jus kreiptis į mus, jeigu turite pasiūlymų, susijusių su produktų veikimu arba naujais pritaikymais ir technikomis.

Jeigu jums reikia techninės pagalbos ir daugiau informacijos, prašom kreiptis į mūsų techninės pagalbos centrą www.qiagen.com/Support ar skambinti į vieną iš QIAGEN techninės pagalbos skyrių arba vietiniams platintojams (žr. užpakalinį viršelį ar tinklalapį www.qiagen.com).

Įspėjimai ir atsargumo priemonės

Dirbdami su chemikalais, visada dėvėkite atitinkamą laboratorinį chalata, vienkartinę pirštines ir apsauginius akinius. Dar žr. atitinkamus Safety Data Sheets (saugos duomenų lapus) (SDS). Juos rasite internete patogiu ir kompaktišku PDF formatu www.qiagen.com/safety, kur jūs galite surasti,

peržiūrėti ir išspausdinti kiekvieno QIAGEN rinkinio bei rinkinio komponento SDS.



ATSARGIAI: NEPILKITE baliklio ar rūgšties tirpalų tiesiai į mėginių ruošinių atliekas.

Reagentų kasetėse (RCB) esančiuose buferiuose yra guanidino hidrochlorido/guanidino izotiocianato, kurie susijungę su balikliu gali suformuoti smarkiai reaguojančius junginius.

Jeigu išpilsite skystį, kuriame yra šio buferio, išvalykite su atitinkama laboratorine valymo priemone ir vandeniu. Jeigu išpilsite skystį su potencialiai užkrečiamomis medžiagomis ant EZ1 instrumentų, dezinfekuokite instrumentą, naudodamiesi reagentais, aprašytais su jūsų EZ1 instrumentu tiekiamame vartotojo vadove.

Su sudužusiomis ar pratekančiomis reagentų kasetėmis (RCB) reikia elgtis atsargiai ir išmesti pagal vietinius saugumo reikalavimus. Nenaudokite pažeistų reagentų kasečių (RCB) ar kitų rinkinio komponentų, nes juos naudojant gali pradėti blogai veikti rinkinys.

QIAGEN netestavo skysčio atliekų, susidariusių po EZ1 DSP DNA Blood procedūros, ar jose neliko užkrečiamų medžiagų likučių. Tikrai neįtikėtina, kad skysčio atliekos būtų užterštos užkrečiamų medžiagų likučiais, tačiau visiškai atmesti tokios tikimybės negalima. Todėl likusias skysčio atliekas reikia laikyti užkrečiamomis, su jomis elgtis atsargiai ir išmesti pagal vietinius saugumo reikalavimus.

Šios rizikos ir saugumo fazės taikomos EZ1 DSP DNA Blood komponentams taikomos toliau išvardytos pavojingumo ir atsargumo frazės:

Reagent Cartridge Blood



Sudėtyje yra: ethanol; guanidine hydrochloride; guanidine thiocyanate. Pavojinga! Gali būti kenksminga prarijus. Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. Labai degūs skystis ir garai. Kontaktudama su rūgštimis išskiria labai toksiškas dujas. Turinį/ talpą išpilti (išmesti) į įteisintą atliekų šalinimo įmonę. **PATEKUS Į AKIS:** Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. **PATEKUS ANT ODOS** (arba plaukų): Nedelsiant nuvilkti/ pašalinti visus užterštus drabužius. Odą nuplauti vandeniu/ čiurkšle. Nedelsiant skambinti į **APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ** arba kreiptis į gydytoją. Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių/žiežirbų/atviros liepsnos/karštų paviršių. - Nerūkyti. Laikyti gerai vėdinamoje vietoje. Laikyti vėsioje vietoje. Mūvėti apsaugines pirštines/ dėvėti apsauginius drabužius/ naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

Kokybės kontrolė

Pagal QIAGEN ISO sertifikuotą Kokybės valdymo sistemą kiekviena EZ1 DSP DNA Blood rinkinio partija yra testuojama pagal iš anksto nustatytas specifikacijas, kad būtų galima užtikrinti aukštą produkto kokybę.

Įvadas

EZ1 DSP DNA Blood rinkinys yra skirtas genominių DNR iš viso kraujo mėginių išgryninimui. Su magnetinių dalelių technologija gaunamos aukštos kokybės DNR, tinkamos tiesioginiam naudojimui pasroviniuose pritaikymuose, pvz., plėtojime ar kitose enzymų reakcijose. EZ1 instrumentas atlieka visus mėginių paruošimo procedūros veiksmus, naudodamas iki 6 mėginių (su EZ1 Advanced arba BioRobot® EZ1 DSP) arba iki 14 mėginių (su EZ1 Advanced XL) per vieną procedūrą.

Naudojant BioRobot EZ1 DSP arba EZ1 Advanced su protokolo kortele V1.0, mėginio sąnaudų kiekis yra 350 µl ir DNR yra išplaunamos su 200 µl išplovimo buferio. Naudojant EZ1 Advanced XL arba EZ1 Advanced su protokolo kortele V2.0, mėginio sąnaudų kiekį galima pasirinkti 200 µl ar 350 µl, o DNR išplovimo kiekį galima pasirinkti 50 µl, 100 µl ar 200 µl.

Principas ir procedūra

Magnetinių dalelių technologijoje yra suderintas silicio dioksido pagrindo DNR išgryninimo su patogiu magnetinių dalelių apdorojimu greitis ir efektyvumas (žr. struktūrinę schemą 10 psl.). DNR yra izoliuojamos nuo lizatų per vieną veiksmą, prisirišdamos prie dalelių silicio dioksido paviršiaus dalyvaujant chaotropinei druskai. Dalelės yra atskiriamos nuo lizatų naudojant magnetą. Po to DNR yra veiksmingai plaunamos ir išplaunamos išplovimo buferyje.

EZ1 DSP DNA Blood sistemos veikimo charakteristika

Sistemos patvarumas

Paimant kraujo mėginius EZ1 DSP DNA Blood procedūrai, galima naudoti įvairius pirminius mėgintuvėlius ir antikoaguliantus. 1 lentelėje (11 psl.) pateikta sistemos vertinimui panaudotų mėginių surinkimo mėgintuvėlių apžvalga. Šie mėgintuvėliai buvo pasirinkti, kad būtų galima įvertinti įvairius kraujo surinkimo mėgintuvėlių antikoaguliantus ir gamintojus. Galima naudoti ir kitų gamintojų mėgintuvėlius.

Vidutinis santykinis DNR išgavimas iš kraujo mėginių naudojant įvairius pirminius mėgintuvėlius yra parodytas 1 pav. (12 psl.).

EZ1 DSP DNA kraujo procedūra

Visas kraujas

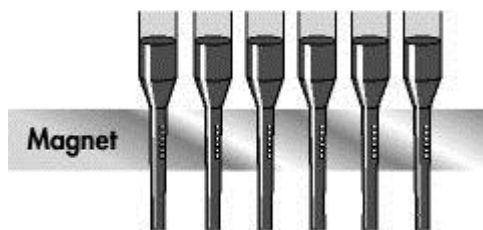


Lizė

Į mėginius sudedamos magnetinės dalelės

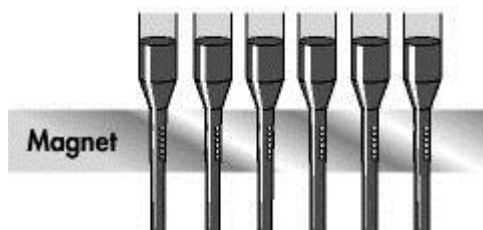


DNR prisiriša prie magnetinių dalelių



Magnetinis atskyrimas

Plovimas



Magnetinis atskyrimas

Išplovimas

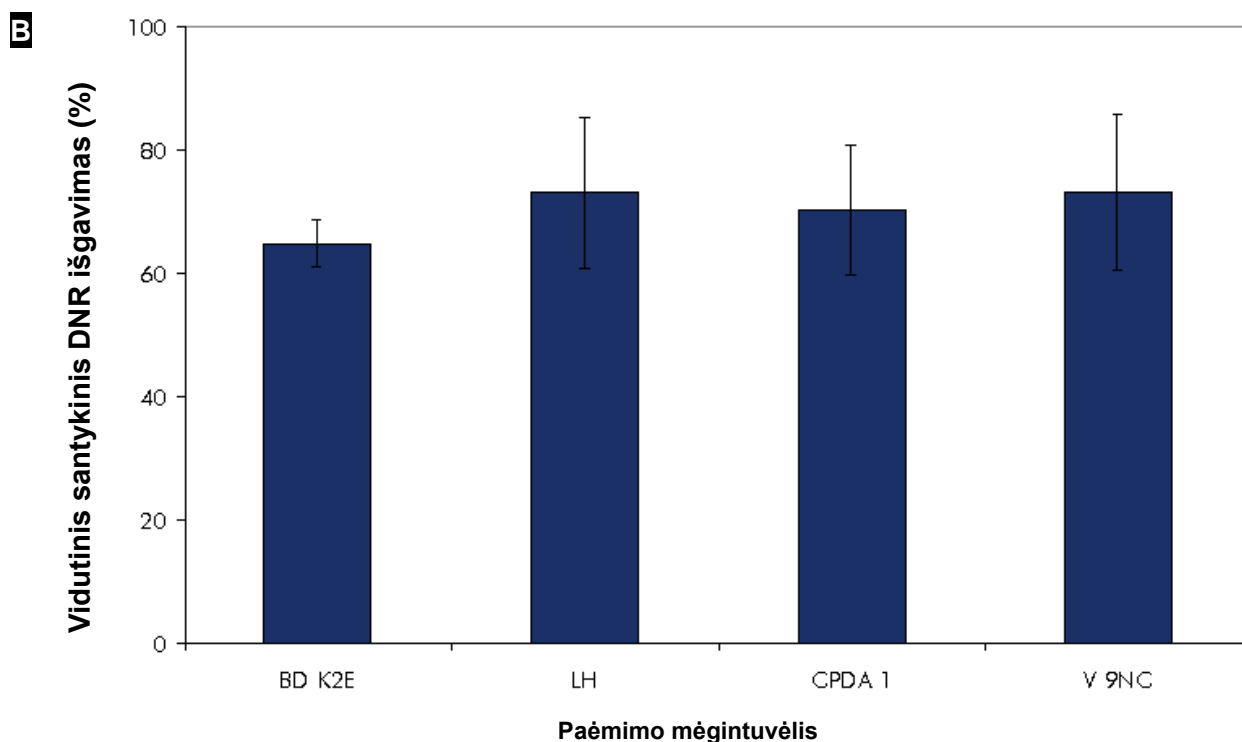
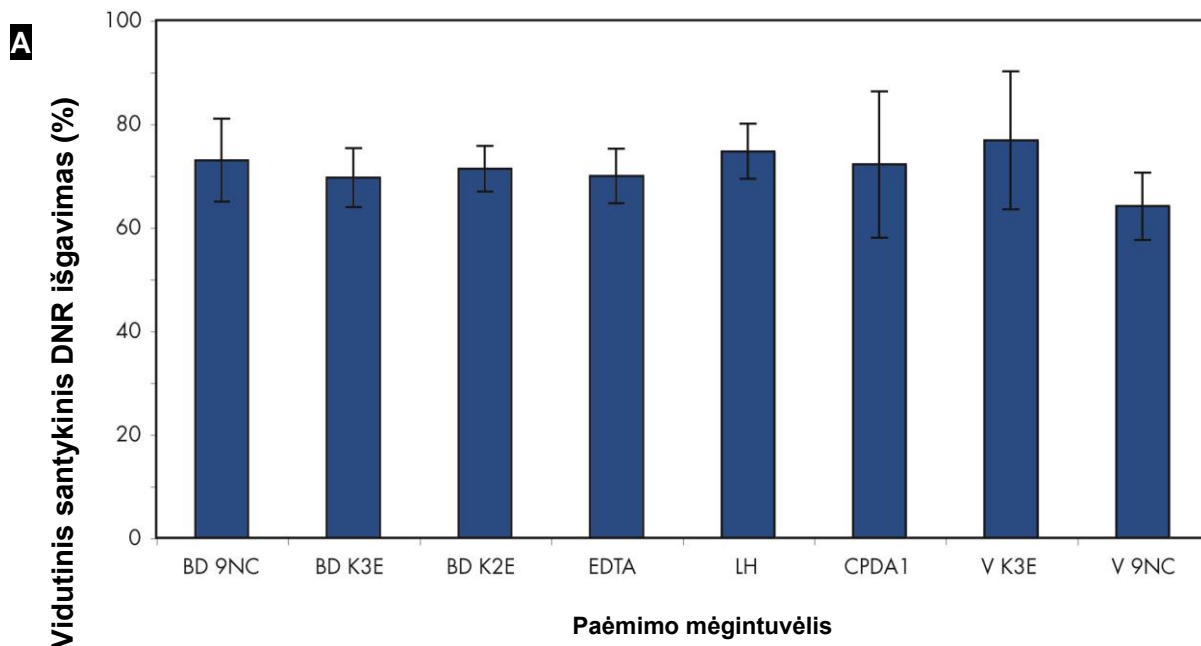


Gryna aukštos kokybės DNR

**1 lentelė. Kraujo surinkimo mėgintuvėliai, pratestuoti su EZ1 DSP DNA
Blood sistema**

Mėgintuvėlis	Sutrumpinimas	Gamintojas	Katalogo nr.*	Nominalinis ištraukimo kiekis (ml)
BD Vacutainer® 9NC	BD 9NC	Becton Dickinson	366007	9
BD Vacutainer K3E	BD K3E	Becton Dickinson	368457	10
BD Vacutainer K2E	BD K2E	Becton Dickinson	367864	6
Monovette® EDTA	EDTA	Sarstedt	21.066.001	9
Monovette LH	LH	Sarstedt	21.065.001	9
Monovette CDPA1	CPDA1	Sarstedt	11.610.001	8.5
Vacurette® K3E	K3E	Greiner Bio-One	455036	9
Vacurette 9NC	V 9NC	Greiner Bio-One	454382	9

* Katalogo numeriai gali keistis; prašom patikrinti pas gamintoją arba tiekėją.



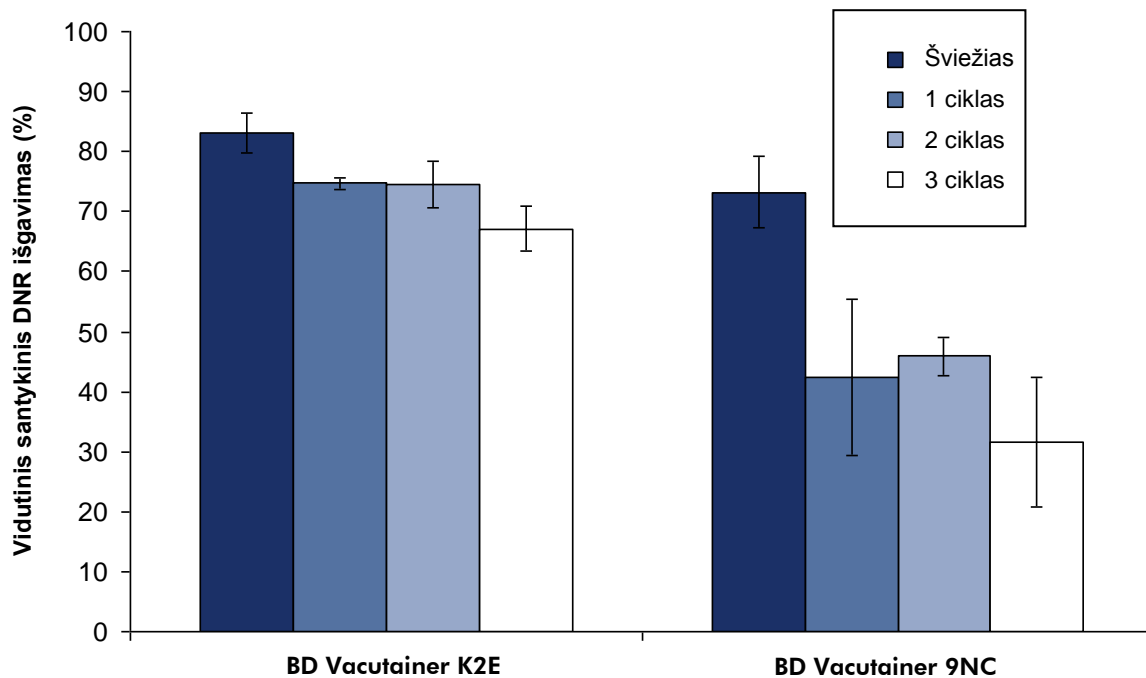
1 pav. Sistemos patvarumas naudojant įvairius surinkimo mėgintuvėlius ir

antikoagulantus. Sveikų donorų visas kraujas buvo surinktas į įvairių tipų mėgintuvėlius su 3 donoro ir mėgintuvėlio kartotiniaus. Naudoti mėgintuvėliai yra nurodyti 1 lentelėje (11 psl.).

A 6 donorų kraujas buvo surinktas į 8 įvairių tipų mėgintuvėlius. Genominės DNR buvo išgrynintos iš 350 µl mėginių atliekant išplovimą su 200 µl. **B** 4 donorų kraujas buvo surinktas į 4 įvairių tipų mėgintuvėlius. Genominės DNR buvo išgrynintos iš 200 µl mėginių, naudojant EZ1 DSP DNA Blood sistemą su EZ1 Advanced XL, atliekant išplovimą su 200 µl. Teorinės DNR buvo gautos iš kiekvieno donoro ir mėgintuvėlio ir nustatytos pagal baltųjų kraujo kūnelių skaičių. Juostos rodo vidutinį santykinį DNR išgavimą (palyginama su teoriniu išgavimu) su standartiniu nukrypimu.

Mėginių šaldymas-atitirpinimas

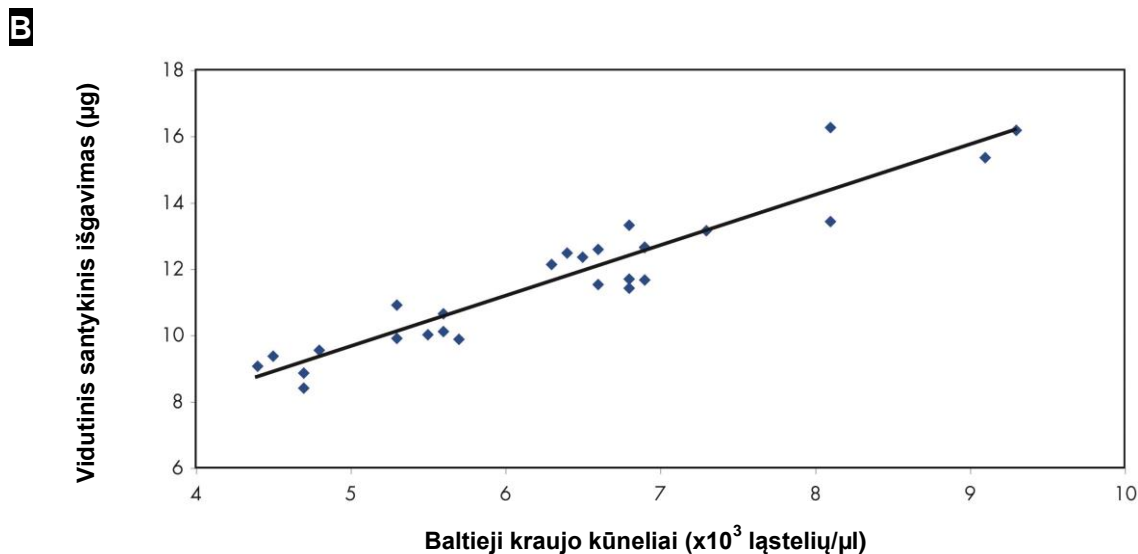
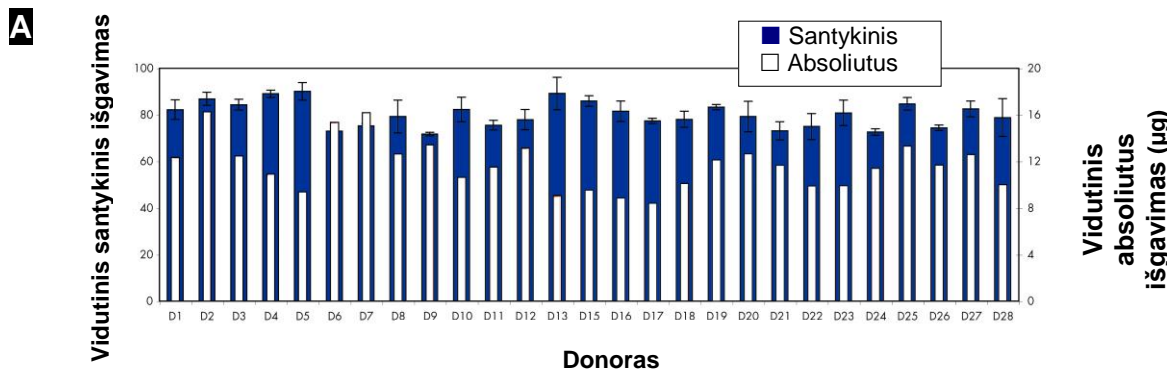
Galima naudoti šviežius arba šaldytus žmogaus viso kraujo mėginius (žr. "Kraujo mėginių laikymas", 27 psl.). Buvo nustatyti kraujo mėginių šaldymo ir atitirpinimo poveikiai DNR išgryninimui naudojant EZ1 DSP DNA Blood sistemą (2 pav.).



2 pav. Šaldymo-atitirpinimo ciklų įtaka DNR išgavimui. 3 sveikų donorų visas kraujas buvo surinktas į nurodytus mėgintuvėlius su kiekvieno jų 6 kartotiniais. Naudoti mėgintuvėliai yra nurodyti 1 lentelėje. Genominės DNR buvo išgrynintos iš 350 µl kiekvieno mėginio, naudojant EZ1 DSP DNA Blood sistemą, ir buvo apskaičiuotos vidutinės kiekvieno donoro bei mėgintuvėlio santykinio DNR išgavimo (**šviežio**) vertės. Mėgintuvėliai su krauju buvo 3 kartus sušaldyti ir atitirpinti. Genominės DNR buvo gryninamos po kiekvieno šaldymo-atitirpinimo ciklo (**1 ciklas – 3 ciklas**), naudojant EZ1 DSP DNA Blood sistemą, ir buvo nustatytas santykinis DNR išgavimas. Šaldant ir atitirpinant rekomenduojami mėgintuvėliai su EDTA kaip antikoaguliantu.

Išgrynintų DNR išgavimas

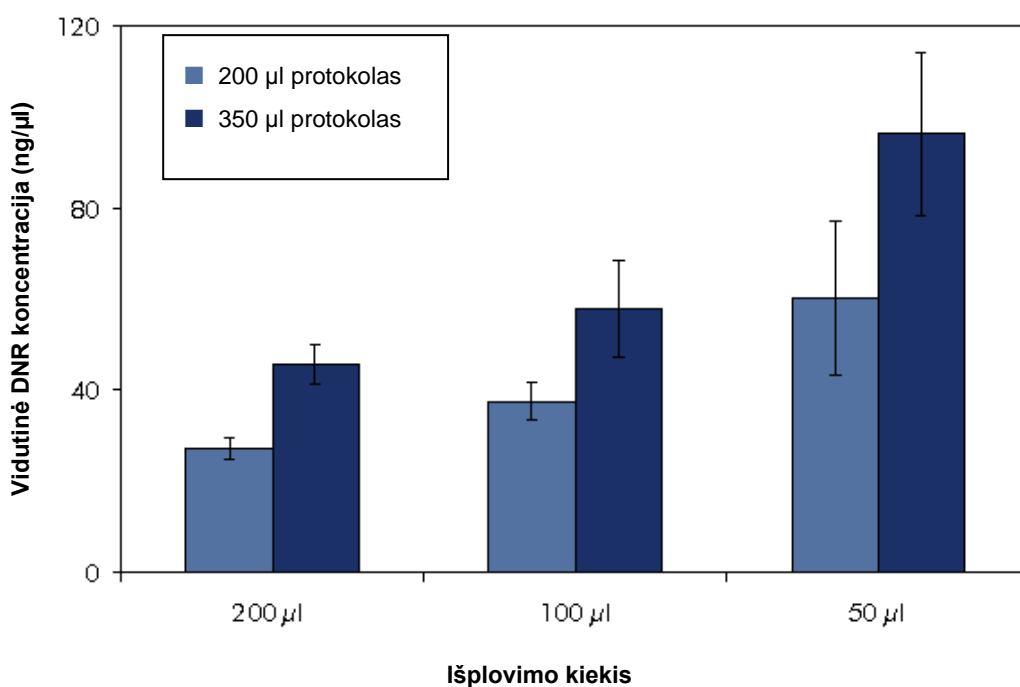
Genominės DNR buvo išgrynintos iš sveikų donorų 350 µl kraujo mėginių. DNR, išgrynintos atliekant EZ1 DSP DNA Blood procedūrą, kiekis priklauso nuo kiekviename kraujo mėginyje esančio baltųjų kraujo kūnelių kiekio, o išgavimas gali keistis priklausomai nuo donoro (3 pav.).



3 pav. Vidutinis absoliutus ir santykinis DNR išgavimas iš įvairių donorų. Buvo surinktas 27 donorų visas kraujas trimis egzemplioriais. Genominės DNR buvo išgrynintos iš 350 μ l kiekvieno mėginio, naudojant EZ1 DSP DNA Blood sistemą. **A** Teorinis DNR išgavimas buvo nustatytas pagal baltųjų kraujo kūnelių skaičių. Parodytas kiekvieno donoro vidutinis absoliutus (**absoliutus**) ir santykinis (**santykinis**) DNR išgavimas (palyginamas su apskaičiuotu teoriniu išgavimu). **B** Parodytas kiekvieno donoro vidutinis absoliutus išgavimas ryšium su baltųjų kraujo kūnelių skaičiumi.

Išgrynintų DNR koncentracija naudojant įvairius išplovimo kiekius

Genominės DNR buvo išgrynintos iš sveikų donorų 250 μ l ir 350 μ l kraujo mėginių atliekant EZ1 DSP DNA Blood procedūrą su EZ1 Advanced XL su trimis skirtingais išplovimo kiekiais (4 pav.).



4 pav. Vidutinė DNR koncentracija, gauta su įvairiais išplovimo kiekiais. Buvo surinktas 3 donorų visas kraujas. Genominės DNR buvo išgrynintos iš 200 μl ir 350 μl kiekvieno mėginio ir išplautos su 200 μl, 100 μl ir 50 μl, kiekvieną kartą trimis egzemplioriais, naudojant EZ1 DSP DNA Blood sistemą su EZ1 Advanced XL. Parodyta kiekvieno protokolo ir išplovimo kiekio vidutinė DNR koncentracija.

i Dėl nedidelio išplovimo buferio kiekio ir išplovimo buferio kaitinimo proceso metu išplovimo su 50 μl rezultatas gali būti mažesni kaip 50 μl galutiniai išplovų kiekiai.

Grynų genominių DNR išplovimas

Genominės DNR yra išplaunamos mažai druskos turiniame išplovimo buferyje. Išplautos DNR yra paruoštos naudoti pasroviniuose in vitro diagnostiniuose bandymuose, pvz., CE-IVD-pažymėtuose *artus*[®] PCR rinkiniuose.

Buvo surinktas 30 atsitiktinai pasirinktų donorų kraujas ir DNR buvo išgrynintos iš 350 μl mėginių ir išplautos 200 μl naudojant EZ1 DSP DNA Blood sistemą. Siekiant nustatyti kliniškai svarbius genetinius variantus metilenetetrahidrofolato reduktazės (MTHFR) ir tiopurino S-metiltransferazės genuose, buvo naudojamas *artus* MTHFR LC PCR rinkinys bei *artus* TPMT LC PCR rinkinys. Mėginiai buvo analizuojami su LightCycler[®] instrumentu. Duomenys yra pateikti 2 ir 3 lentelėje (pradedant nuo 16 ir 19 psl.) su lydymosi kreivės analize, o MTHFR geno variantų procentinis pasiskirstymas yra pavaizduotas 5 ir 6 pav. (18 ir 19 psl.).

2 lentelė. MTHFR geno nukleotido 667 ir nukleotido 1298 polimorfizmai, aptikti naudojant *artus* MTHFR LC PCR rinkinį

Mėginio numeris	Nukleotidas 677	Nukleotidas 1298	Genotipas
1	heterozigotinis var	homozigotinis wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
2	homozigotinis wt	homozigotinis wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298
3	homozigotinis wt	heterozigotinis var	wt677/wt677 wt1298/var1298
4	homozigotinis var	homozigotinis wt	var677/var677 wt1298/wt1298
5	homozigotinis wt	heterozigotinis var	wt677/wt677 wt1298/var1298
6	homozigotinis wt	heterozigotinis var	wt677/wt677 wt1298/var1298
7	heterozigotinis var	homozigotinis wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
8	homozigotinis wt	homozigotinis wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298
9	homozigotinis wt	heterozigotinis var	wt677/wt677 wt1298/var1298
10	heterozigotinis var	heterozigotinis var	wt677/var677 wt1298/var1298
11	homozigotinis wt	heterozigotinis var	wt677/wt677 wt1298/var1298
12	homozigotinis wt	homozigotinis wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298
13	homozigotinis wt	homozigotinis wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298

var: Alelinis variantas ties nurodyta MTHFR geno padėtimi.

wt: Alelinis laukinis tipas ties nurodyta MTHFR geno padėtimi.

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

2 lentelė. Tęsinys

Mėginio numeris	Nukleotidas 677	Nukleotidas 1298	Genotipas
14	heterozigotinis var	homozigotinis wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
15	heterozigotinis var	homozigotinis wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
16	homozigotinis wt	heterozigotinis var	wt677/wt677 wt1298/var1298
17	homozigotinis var	homozigotinis wt	var677/var677 wt1298/wt1298
18	heterozigotinis var	homozigotinis wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
19	homozigotinis wt	heterozigotinis var	wt677/wt677 wt1298/var1298
20	homozigotinis wt	heterozigotinis var	wt677/wt677 wt1298/var1298
21	homozigotinis wt	homozigotinis var	wt677/wt677 var1298/var1298
22	heterozigotinis var	homozigotinis wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
23	heterozigotinis var	heterozigotinis var	wt677/var677 wt1298/var1298
24	heterozigotinis var	homozigotinis wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
25	homozigotinis wt	heterozigotinis var	wt677/wt677 wt1298/var1298
26	homozigotinis wt	homozigotinis var	wt677/wt677 var1298/var1298
27	homozigotinis wt	heterozigotinis var	wt677/wt677 wt1298/var1298
28	heterozigotinis var	heterozigotinis var	wt677/var677 wt1298/var1298

var: Alelinis variantas ties nurodyta MTHFR geno padėtimi.

wt: Alelinis laukinis tipas ties nurodyta MTHFR geno padėtimi.

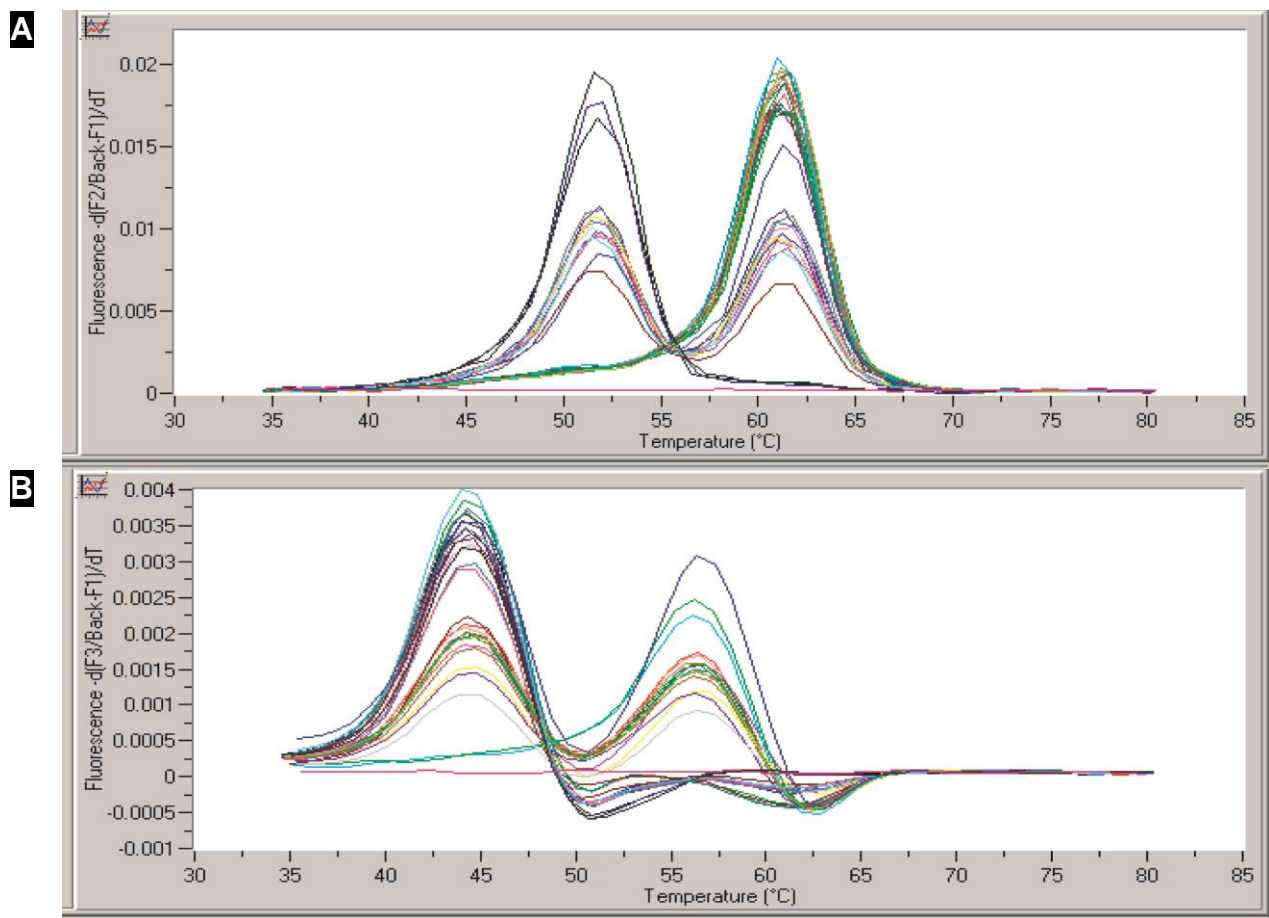
Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

2 lentelė. Tęsinys

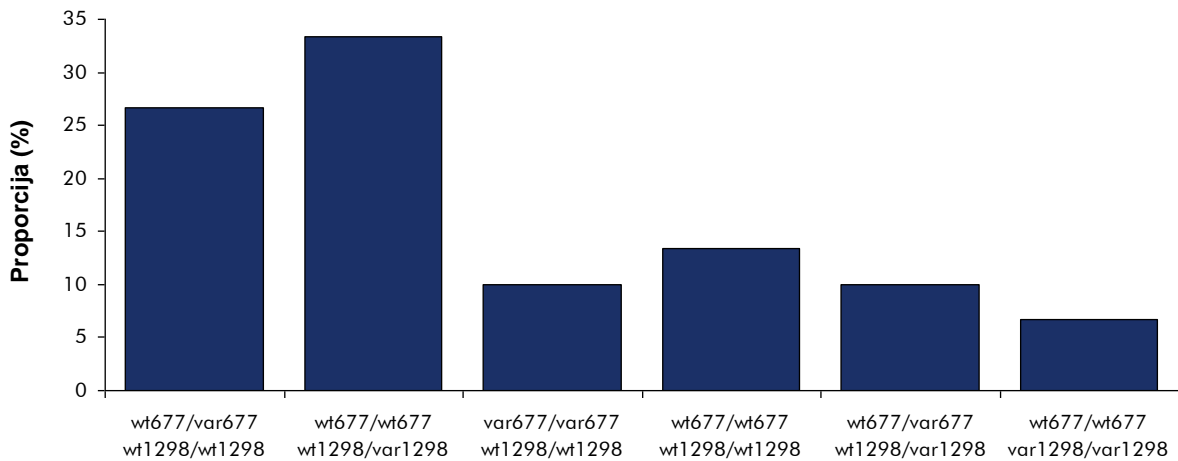
Mėginio numeris	Nukleotidas 677	Nukleotidas 1298	Genotipas
29	heterozigotinis var	homozigotinis wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
30	homozigotinis var	homozigotinis wt	var677/var677 wt1298/wt1298

var: Alelinis variantas ties nurodyta MTHFR geno padėtimi.

wt: Alelinis laukinis tipas ties nurodyta MTHFR geno padėtimi.



5 pav. MTHFR geno nukleotidų 677 ir 1298 plėtojimo produktų lydymosi kreivės analizė. 30 donorų viso kraujo DNR buvo išgrynintos naudojant EZ1 DSP DNA Blood sistemą. Išplovos buvo analizuojamos naudojant CE-IVD-pažymėtą *artus* MTHFR LC PCR rinkinį su lydymosi analize LightCycler instrumente. **A** Nukleotido 677 analizė. **B** Nukleotido 1298 analizė.



6 pav. MTHFR genui aptiktų genotipų pasiskirstymas. 2 lentelės ir 5 paveikslėlio duomenų grafinė santrauka pagal kiekvieno aptikto genotipo proporciją.

3 lentelė. TPMT geno, aptikto naudojant *artus* TPMT LC PCR rinkinį, polimorfizmai

Mėginio numeris	TPMT genotipas
1	TPMT*1/*1
2	TPMT*1/*1
3	TPMT*1/*1
4	TPMT*1/*1
5	TPMT*1/*1
6	TPMT*1/*3A ar TPMT*3C/*3B
7	TPMT*1/*1
8	TPMT*1/*3A ar TPMT*3C/*3B
9	TPMT*1/*1
10	TPMT*1/*3A ar TPMT*3C/*3B
11	TPMT*1/*1
12	TPMT*1/*1
13	TPMT*1/*1
14	TPMT*1/*1

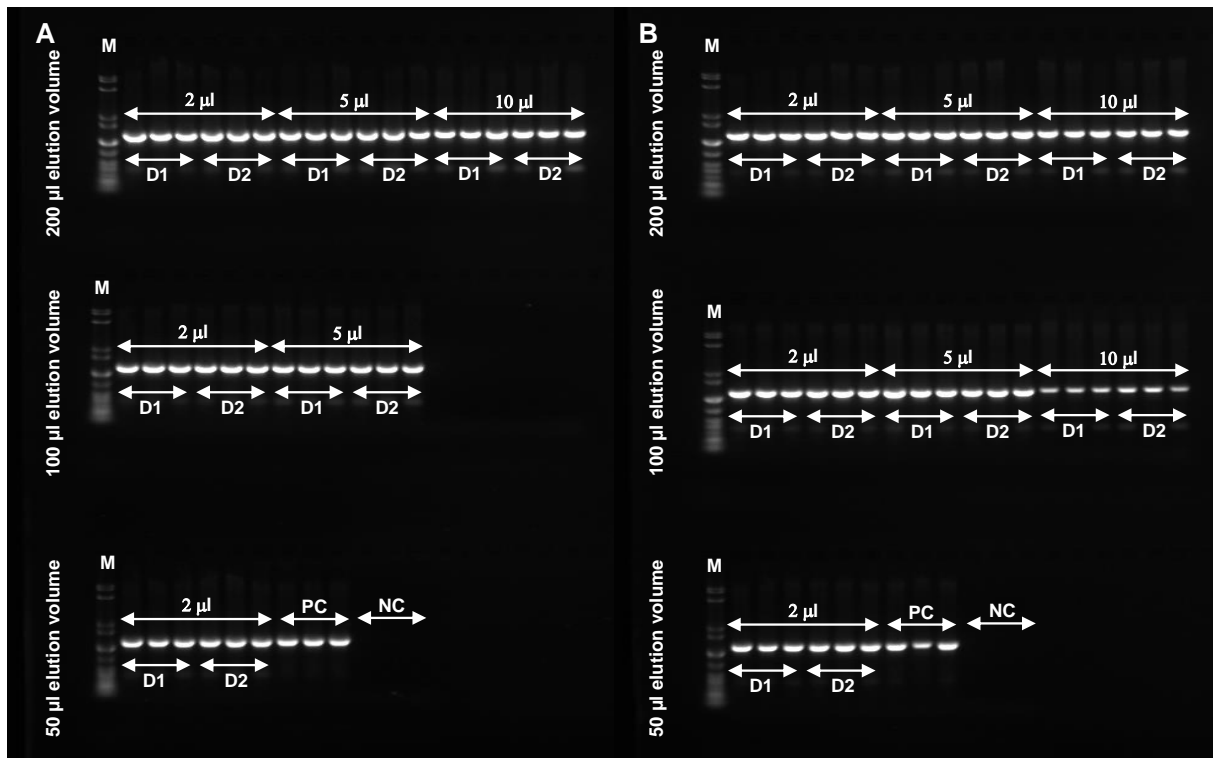
Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

3 lentelė. Tęsinys

Mėginio numeris	TPMT genotipas
15	TPMT*1/*1
16	TPMT*1/*1
17	TPMT*1/*3A ar TPMT*3C/*3B
18	TPMT*1/*1
19	TPMT*1/*1
20	TPMT*1/*1
21	TPMT*1/*1
22	TPMT*1/*1
23	TPMT*1/*1
24	TPMT*1/*1
25	TPMT*1/*1
26	TPMT*1/*1
27	TPMT*1/*1
28	TPMT*1/*1
29	TPMT*1/*1
30	TPMT*1/*1

Slopinimo testas

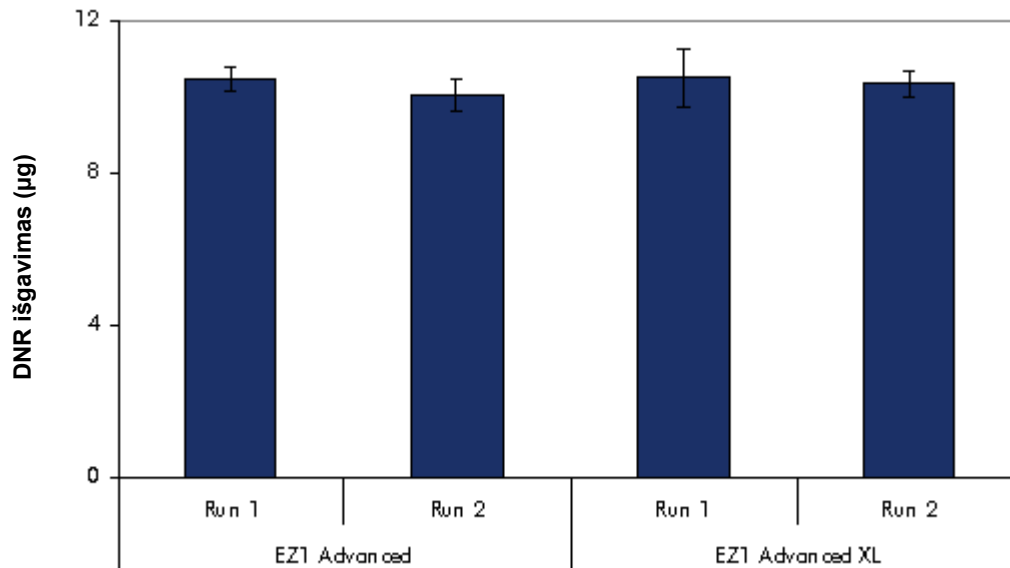
Buvo nustatyti PCR naudotų išplovų didėjančių kiekių poveikiai PCR darbui (7 pav.).



7 pav. PCR naudotų išplovų kiekių poveikiai PCR darbui. Į BD K2E mėgintuvėlius buvo surinktas dviejų sveikų donorų (**D1**, **D2**) kraujas. Genominės DNR buvo išgrynintos iš 350 µl (**A**) ir 200 µl (**B**) mėginių kartotinių trimis egzemplioriais, naudojant EZ1 DSP DNA Blood sistemą. DNR buvo išplautos 200 µl, 100 µl ar 50 µl (**išplovimo kiekis**). Nurodytas išplovų kiekis buvo panaudotas 50 µl PCR su gruntais, skirtais 1100 bp vienos kopijos žmogaus geno fragmentui. **PC**: teigiama kontrolė. **NC**: neigiama kontrolė. **M**: žemos DNR masės pakopinė diagrama. (Įsidėmėkite, kad naudodami didelius kiekius aukštų DNR koncentracijų galite perkrauti PCR, ką rodo, pvz., silpnesnės juostos, kai PCR naudojama 10 µl iš 100 µl išplovimo.).

Preciziškumo analizė

Iš 350 µl žmogaus viso kraujo išgautos DNR buvo palygintos skirtingų procedūrų metu, naudojant EZ1 DSP DNA Blood sistemą su EZ1 Advanced ir EZ1 Advanced XL. Preciziškumo procedūros metu duomenys parodyti kaip standartiniai DNR išgavimo nukrypimai (8 pav.).



8 pav. Preciziškumas procedūros metu ir per atskiras procedūras naudojant EZ1 DSP DNA Blood sistemą. Sveiko donoro kraujas buvo surinktas į BD K2E mėgintuvėlius ir prieš naudojimą sulietas. Genominės DNR buvo išgrynintos iš dvylikos 350 µl mėginių kartotinių per 2 procedūras (**Run 1, Run 2**), kurių kiekvieną sudarė 6 kartotiniai, su EZ1 Advanced, ir iš dvidešimt aštuonių 350 µl mėginių kartotinių per 2 procedūras (**Run 1, Run 2**), kurių kiekvieną sudarė 14 kartotinių, su EZ1 Advanced XL, naudojant EZ1 DSP DNA Blood sistemą. Parodytas kiekvienos procedūros vidutinis visas DNR išgavimas ir standartinis nukrypimas. Preciziškumo procedūros metu vertės buvo 2.90% (Run 1, EZ1 Advanced), 3.80% (Run 2, EZ1 Advanced), 7.17% (Run 1, EZ1 Advanced XL) ir 3.45% (Run 2 EZ1 Advanced XL), o visas preciziškumas buvo 5.17%.

Išplovų stabilumas

Buvo pademonstruotas 24 mėn. genominių DNR stabilumas EZ1 išplovose laikant 5°C ir 36 mėn. stabilumas laikant –20°C ar –80°C.

Mėginio likučių išskyrimas

Su EZ1 DSP DNA Blood sistema buvo atlikta dvylika procedūrų naudojant EZ1 Advanced (su V2.0 protokolo kortele; 350 µl sąnaudų, 200 µl išplovimo) ir devynios procedūros naudojant EZ1 Advanced XL (200 µl sąnaudų, 200 µl išplovimo), kad būtų galima įvertinti kryžminio užteršimo atvejų EZ1 DSP DNA Blood procedūrų metu ir per atskiras procedūras riziką. Norint aptikti likučius įvairiuose mėginiuose, besikeičiančiose padėtyse buvo atliktos trys procedūros su vyrų (teigiamais) ir moterų (neigiamais) kraujo mėginiais, kas parodyta 4 ir 5 lentelėje. Kas trečia procedūra buvo atliekama naudojant tik moterų kraujo mėginius. Visos išplovos buvo testuojamos, ar yra Y chromosomos specifinio vienos kopijos geno SRY 78 bp fragmento plėtojimas, naudojant QIAGEN QuantiTect® Probe PCR rinkinį.

4 lentelė. EZ1 Advanced kryžminio užteršimo testo nustatymas ir teigiamų (vyrų) mėginių C_T vertės

Procedūra	Padėtis					
	1	2	3	4	5	6
1	23.37	F	23.14	F	23.22	F
2	F	23.41	F	23.15	F	23.44
3	F	F	F	F	F	F
4	23.53	F	23.27	F	23.39	F
5	F	23.28	F	23.39	F	23.46
6	F	F	F	F	F	F
7	23.14	F	23.50	F	23.17	F
8	F	23.21	F	23.46	F	23.44
9	F	F	F	F	F	F
10	23.29	F	23.45	F	23.47	F
11	F	23.53	F	23.39	F	23.42
12	F	F	F	F	F	F

F: moterų (neigiami) mėginiai.

Skaičiai: vyrų (teigiamų) mėginių C_T vertės.

5 lentelė. EZ1 Advanced XL kryžminio užteršimo testo nustatymas ir teigiamų (vyrų) mėginių C_T vertės

Procedūra	Padėtis						
	1	2	3	4	5	6	7
1	24.27	F	24.13	F	24.12	F	24.22
2	F	23.92	F	24.12	F	23.85	F
3	F	F	F	F	F	F	F
4	24.02	F	23.98	F	24.31	F	24.35
5	F	24.74	F	24.56	F	24.62	F
6	F	F	F	F	F	F	F
7	24.48	F	24.64	F	24.49	F	24.52
8	F	24.55	F	24.40	F	24.52	F
9	F	24.80	F	24.70	F	24.68	F
	Padėtis						
	8	9	10	11	12	13	14
1	F	23.99	F	24.16	F	24.18	F
2	24.06	F	24.11	F	23.94	F	24.02
3	F	F	F	F	F	F	F
4	F	24.22	F	24.30	F	24.10	F
5	24.64	F	24.28	F	24.59	F	24.53
6	F	F	F	F	F	F	F
7	F	24.62	F	24.41	F	24.66	F
8	24.37	F	24.46	F	24.58	F	24.46
9	24.74	F	24.52	F	24.80	F	24.67

F: moterų (neigiami) mėginiai.

Skaičiai: vyrų (teigiamų) mėginių C_T vertės.

Visi vyrų kraujo mėginiai buvo su PCR pratestuoti kaip teigiami (C_T vertės yra nurodytos 4 ir 5 lentelėje), o visi moterų kraujo mėginiai – kaip neigiami. Šie bandymai rodo, kad EZ1 DSP DNA Blood procedūros metu šiomis sąlygomis mėginys nepernešamas.

Vartotojui tiekiami įranga ir reagentai

Dirbdami su chemikalais, visada dėvėkite atitinkamą laboratorinį chalata, vienkartinės pirštines ir apsauginius akinius. Daugiau informacijos yra atitinkamuose Safety Data Sheets (saugos duomenų lapuose) (SDS), kuriuos gali pateikti produkto tiekėjas.

Visi protokolai

- Pipetės* ir sterilūs pipečių antgaliai be RNR;
- Minkštos popierinės servetėlės;
- Vanduo;
- 70% etanolis;
- Pasirenkamai: purtyklė-inkubatorius* (jeigu reagentų kasetėse [RCB] šulinėlių dugne yra nuosėdų);
- Pasirenkamai: mikrocentrifuga* (jeigu iš išplovų reikia pašalinti magnetines daleles).

BioRobot EZ1 vartotojams

- BioRobot EZ1 DSP instrumentas* (nutrauktas);
- EZ1 DSP DNA Blood kortelė (katalogo nr. 9017713).

EZ1 Advanced vartotojams

- EZ1 Advanced instrumentas* (nutrauktas);
- EZ1 Advanced DSP DNA Blood kortelė (katalogo nr. 9018305).

EZ1 Advanced XL vartotojams

- EZ1 Advanced XL instrumentas* (katalogo nr. 9001492);
- EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood kortelė (katalogo nr. 9018702).

EZ1 Advanced ir EZ1 Advanced XL vartotojams

- Norint atsekti mėginius, reikalingas vienas iš šių dalykų:
 - PC (su monitoriumi; QIAGEN PC, katalogo nr. 9016310, ir monitorius, katalogo nr. 9016308, arba jūsų nuosavas PC ir monitorius) su EZ1 Advanced Communicator programine įranga (programinė įranga tiekama su EZ1 Advanced ir EZ1 Advanced XL instrumentais) ;
 - Spausdintuvas (katalogo nr. 9018464) ir spausdintuvo priedų pakuotė (katalogo nr. 9018465);

* Įsitikinkite, kad instrumentai buvo reguliariai tikrinami, prižiūrimi ir kalibruojami pagal gamintojo rekomendacijas.

- Pasirenkamai: 80% ethanolio* ir 2 ml mėgintuvėliai užsukamais kamšteliais (jeigu atliekami pasirenkamo plovimo su 80% etanolio veiksmai su EZ1 Advanced naudojant V2.0 protokolo kortelę arba su EZ1 Advanced XL, žr. "Veiksmai, kuriuos reikia atlikti prieš pradėdant", 34 ir 37 psl.).

* Nenaudokite denatūruoto alkoholio, kuriame yra kitų substancijų, pvz., metanolio ar metililketono.

Svarbios pastabos

Kraujo mėginių laikymas

Galima naudoti viso kraujo mėginius, apdorotus su EDTA, ACD arba heparinu*, ir jie gali būti švieži arba šaldyti. Šaldytus mėginius prieš pradėdant procedūrą reikia atitirpinti kambario temperatūroje (15–25°C) švelniai sukant. Išgrynintų DNR sąnaudos ir kiekis priklauso nuo kraujo laikymo sąlygų. Su šviežesniais kraujo mėginiais galite gauti geresnių rezultatų.

- Jeigu laikysite trumpą laiką (iki 10 dienų), surinkite kraują į mėgintuvėlius su EDTA kaip antikoaguliantu ir laikykite mėgintuvėlius 2–8°C. Bet jeigu procedūroje reikalingas maksimalaus dydžio fragmentas, pvz., atliekant Southern gruntavimą, mes rekomenduojame laikyti 2–8°C tik iki 3 dienų, kadangi praėjus šiam laikui DNR suirs.
- Jeigu laikysite ilgesnį laiką, surinkite kraują į mėgintuvėlius su standartiniu antikoaguliantu (pageidautina EDTA, jeigu reikalingos didelio molekulinio svorio DNR) ir laikykite mėgintuvėlius –70°C.
- Nenaudokite kraujo, kuriame pastebite krešėjimo požymių.

Nuosėdos reagento kasetėje (RCB)

Buferis reagento kasetės (RCB) 1 šulinėlyje (šis šulinėlis yra arčiausiai EZ1 instrumento priekinės dalies, kai įdedama reagento kasetė (RCB)) laikant gali suformuoti nuosėdas. Prieš naudojimą išbalansuojant reagentų kasetėje (RCB) iki kambario temperatūros. Prireikus pakartotinai ištirpinkite 30–40°C švelniai sukdami.

Darbas su EZ1 instrumentais

Pagrindinės EZ1 instrumentų ypatybės yra šios:

- Aukštos kokybės nukleino rūgščių išgryninimas iš 1–6 ar 1–14 mėginių per procedūrą;
- Maža pėda, kad būtų sutaupyta vietos laboratorijoje;
- Iš anksto užprogramuotos EZ1 DSP kortelės su paruoštais naudojimui protokolais;
- Iš anksto pripildytos, užsandarintos reagentų kasetės, kurias galima lengvai, saugiai ir greitai nustatyti;
- Pilnas nukleino rūgšties išgryninimo automatizavimas;

* Dirbdami su chemikalais, visada dėvėkite atitinkamą laboratorinį chalata, vienkartinės pirštines ir apsauginius akinius. Daugiau informacijos yra atitinkamuose Safety Data Sheets (saugos duomenų lapuose) (SDS), kuriuos gali pateikti produkto tiekėjas.

Papildomos EZ1 Advanced ir EZ1 Advanced XL ypatybės yra šios:

- Brūkšninių kodų skaitymas ir mėginių atsekimas;
- Rinkinio duomenų atsekimas su rinkinyje tiekiamą Q-kortele;
- UV lempa, padedanti pašalinti mėginių likučius ir atlikti nukenksminimą.

ⓘ UV nukenksminimas padeda sumažinti galimą EZ1 Advanced ir EZ1 Advanced XL darbatalio paviršiaus užteršimą patogenais. Išaktyvavimo veiksmingumą reikia nustatyti kiekvienam atskiram organizmui ir jis priklauso, pvz., nuo sluoksnio storio ir mėginio tipo. QIAGEN negali garantuoti pilno tam tikrų patogenų išnaikinimo.

EZ1 kortelės

EZ1 DSP DNA Blood protokolą yra laikomas iš anksto užprogramuotose EZ1 kortelėse (integruotos grandinės kortelėse). Vartotojas paprasčiausiai įdeda EZ1 kortelę į atitinkamą EZ1 instrumentą, o instrumentas yra pasiruošęs apdoroti protokolą (9 ir 10 pav.).



9 pav. Protokolo nustatymo palengvinimas naudojant EZ1 DSP korteles. EZ1 kortelės su protokolu įdėjimas į EZ1 instrumentą.

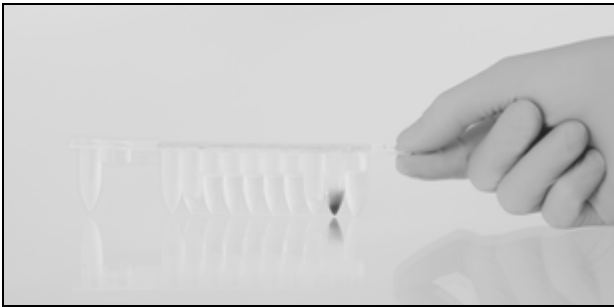
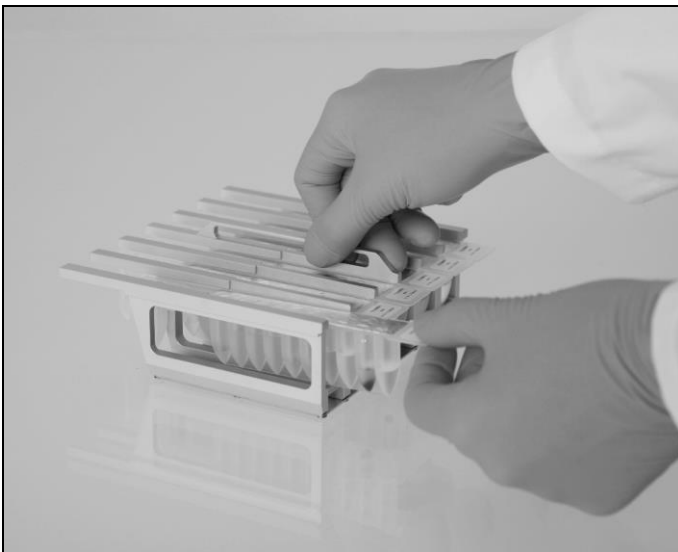
ⓘ Instrumentą reikia įjungti tik įdėjus EZ1 kortelę. Įsitikinkite, kad EZ1 kortelė pilnai įdėta! Priešingu atveju galite prarasti esminius instrumento duomenis, dėl ko atsirastų klaidos. EZ1 kortelių negalima keisti, kol įjungtas instrumentas.



10 pav. EZ1 kortelė, pilnai įdėta į EZ1 kortelės angą.

Reagentų kasetės (RCB)

Vieno mėginio nukleino rūgščių išgryninimui skirti reagentai yra vienoje reagento kasetėje (RCB) (11 pav., 30 psl.). Kiekviename kasetės (RCB) šulinėlyje yra tam tikras reagentas, pvz., magnetinės dalelės, lizės buferis, plovimo buferis ar išplovimo buferis (AVE). Kadangi kiekviename šulinėlyje yra tik reikiamas reagento tiekis, stenkitės neišleisti papildomų atliekų dėl išgryninimo procedūros pabaigoje likusio reagento.

A**B**

11 pav. Instrumento nustatymo palengvinimas naudojant reagentų kasetes (RCB). **A** Užsandarinta, iš anksto pripildyta reagento kasetė (RCB). **B** Reagentų kasečių (RCB) sudėjimas į kasečių stovą. Pats kasečių stovas yra pažymėtas strėlyte, rodančia, kokia kryptimi reikia įdėti reagentų kasetes (RCB).

Darbastalis

EZ1 instrumento darbastalis yra vieta, kurioje vartotojas sudeda mėginius ir EZ1 DSP DNA Blood rinkinio komponentus (12 pav., 31 psl.).

Darbastalio nustatymo smulkmenos yra rodomos EZ1 Advanced ar EZ1 Advanced XL vakuuminiam fluorescenciniame ekrane (VFD) arba BioRobot EZ1 DSP valdymo skydo skystųjų kristalų ekrane (LCD), kai vartotojas pradeda darbastalio nustatymo procedūrą.

Instrumento ekrane rodoma ir protokolo būseną per automatizuotą išgryninimo procedūrą.



12 pav. EZ1 instrumento darbustalis.

1. Išplovimo mėgintuvėliai (ET) (1.5 ml) sudėti pirmoje eilėje.
2. Vienkartinių antgalių laikikliai (DTH) su vienkartiniais filtro antgaliais (DFT) sudėti antroje eilėje.
3. Trečia eilė yra tuščia, nes ji skirta EZ1 DSP DNA Blood protokolui. (Pasirenkamai: jeigu atliekami plovimo su 80% etanoliu veiksmai, šioje eilėje sudedami 2 ml mėgintuvėliai, kurių kiekviename yra 1800 µl 80% etanolio).
4. Mėginių mėgintuvėliai (ST) (2 ml) yra sudedami ketvirtoje eilėje.
5. Reagentų kasetės (RCB) sudedamos kasečių stovė.
6. Kaitinimo blokas yra tuščias, nes jis skirtas EZ1 DSP DNA Blood protokolui.


Duomenų atsekimas su EZ1 Advanced ir EZ1 Advanced XL

EZ1 Advanced ir EZ1 Advanced XL leidžia pilnai atsekti įvairius duomenis, kad procesas būtų geriau kontroliuojamas ir taptų patikimesnis. EZ1 rinkinio partijos numeris ir galiojimo pabaigos data yra įvedami pradedant darbą su protokolu ir naudojant Q-kortelės brūkšninį kodą. Vartotojo ID ir Q-kortelės brūkšninį kodą galima įvesti rankiniu būdu, naudojant pagalbinę klaviatūrą

arba skenuojant brūkšninius kodus su rankoje laikomu brūkšninių kodų skaitytuvu. Pradedant darbą su protokolu, galima pasirenkamai įvesti informaciją apie mėginį ir bandymą. Baigiant darbą su protokolu, automatiškai generuojamas ataskaitos failas. EZ1 Advanced ir EZ1 Advanced XL galima išsaugoti iki 10 rezultatų failų ir tuos duomenis galima perkelti į PC arba tiesiogiai išspausdinti su spausdintuvu (užsakymo informaciją rasite “Vartotojui tiekiami įranga ir reagentai” 25 psl.).

Norint gauti ataskaitos failus PC, reikia instaliuoti EZ1 Advanced Communicator programinę įrangą. Programinė įranga gauna ataskaitos failą ir išsaugo jį aplanke, kurį jūs nurodysite. Kai PC gauna ataskaitos failą, jūs galite panaudoti ir apdoroti failą su LIMS (Laboratorinės informacijos valdymo sistema) ar kitomis programomis. Ataskaitos failo pavyzdys yra parodytas D priede (73 psl.). Ataskaitos failuose išvardinti šeši EZ1 Advanced lašinimo kanalai, iš kairės į dešinę, A – F kanalai, arba keturiolika EZ1 Advanced XL lašinimo kanalų, iš kairės į dešinę, 1–14 kanalai.

Kai su brūkšninių kodų skaitytuvu nuskenuojamas vartotojo ID ar Q-kortelės brūkšninis kodas, duomenų įvestį patvirtina pyptelėjimas. Informacija parodoma ekrane 2 sekundes, o po to automatiškai išsaugoma ir ekrane pasirodo kitas pranešimas. Kai nuskenuojamas mėginio ID, bandymo rinkinio ID arba pastabos, duomenų įvestį patvirtina pyptelėjimas, ekrane parodoma informacija, o po to pranešimas perspėja jus, kad reikia įvesti kitą informacijos elementą. Kai nuskenuojamas mėginio ID, bandymo rinkinio ID ir pastabos, vieną kartą paspauskite “ENT”, kad patvirtintumėte, jog įvesta informacija teisinga. Jeigu, pvz., nuskenuojamas neteisingas vieno iš mėginių brūkšninis kodas, paspauskite “ESC” ir iš naujo perskenuokite visus mėginių brūkšninius kodus, remdamiesi ekrane rodomomis instrukcijomis. Su vartotojo ID ir pastabomis jūs galite įvesti skaičius, naudodamiesi pagalbine klaviatūra, arba lengvai generuoti nuosavus brūkšninius kodus, kad užšifrotumėte šiuos skaičius.

 Atsekdami duomenis, visada pradėkite dėti mėginius į EZ1 Advanced A padėtį ir EZ1 Advanced XL 1 padėtį. Iš eilės patalpinkite likusius mėginius į kitas laisvas darbatalio padėtis.

Daugiau informacijos apie duomenų atsekimą ir EZ1 Advanced Communicator programinės įrangos naudojimą rasite *EZ1 Advanced vartotojo vadove* arba *EZ1 Advanced XL vartotojo vadove*.

EZ1 DSP DNA Blood darbo eiga

Įdėkite EZ1 DSP DNA Blood kortelę į EZ1 kortelės angą



Įjunkite EZ1 instrumentą



Atsekite duomenis pagal ekrane rodomą pranešimą*



Nustatykite darbastalį pagal ekrane rodomus pranešimus



Pradėkite darbą su protokolu



Surinkite išgrynintas DNR



UV nukenksminimas*

* Tik EZ1 Advanced ir EZ1 Advanced XL.

Protokolas: Genominių DNR iš viso kraujo išgryninimas naudojant EZ1 Advanced XL

Svarbūs nurodymai prieš pradėdant

- Jeigu naudojate EZ1 DSP DNA Blood rinkinį pirmą kartą, perskaitykite “Svarbias pastabas” 27 psl.
- Reagentų kasetėse (RCB) yra guanidino druskų ir todėl jos nesuderinamos su dezinfekciniais reagentais, kuriuose yra baliklio. Dirbdami imkitės atitinkamų saugumo priemonių ir dėvėkite pirštines. Saugumo informaciją rasite 6 psl.
- Visus protokole nurodytus veiksmus atlikite kambario temperatūroje (15–25°C). Nustatymo procedūros metu dirbkite greitai.
- Gavę rinkinį, patikrinkite rinkinio komponentus, ar jie nepažeisti. Jeigu reagentų kasetės (RCB) ar kiti rinkinio komponentai yra pažeisti, susisieki su QIAGEN technine pagalba arba savo vietiniu platintoju. Jeigu išsipiltų skystis, žr. “Įspėjimai ir atsargumo priemonės” (6 psl.). Nenaudokite pažeistų reagentų kasetių (RCB) ar kitų rinkinio komponentų, nes juos naudojant gali blogai veikti rinkinys.
- Genominių DNR išgavimas priklauso nuo baltųjų kraujo kūnelių skaičiaus mėginyje.

Veiksmai, kuriuos reikia atlikti prieš pradėdant

- Lizės buferis reagento kasetėje (RCB) laikant gali suformuoti nuosėdas. Prireikus pakartotinai jį ištirpinkite, šildydami 30–40°C, o po to patalpinkite kambario temperatūroje.
- Į protokolą įeina pasiūlymas atlikti plovimus su 80% etanoliu, o ne su reagento kasetėje tiekiamu buferiu. Atliekant kai kurias pasrovines procedūras, tai gali būti naudinga. Jeigu atliekate šią pasirinktą, darbatalio 3 eilėje patalpinkite 2 ml mėgintuvėlius, kurių kiekviename yra 1800 µl 80% etanolio (žr. 12 pav. 31 psl.). Norėdami paruošti 80% etanolio, kurio pakaktų 14 mėginių, pripilkite 6 ml vandens be nukleazės į 24 ml 100% etanolio.* Laikykite ekrane rodomuose pranešimuose pateiktą instrukciją.

* Nenaudokite denatūruoto alkoholio, kuriame yra kitų substancijų, pvz., metanolio ar metiletilketono.

Procedūra

1. Sulyginkite iki 14 viso kraujo mėginių kambario temperatūroje.

i Įsitinkite, kad šaldyti mėginiai buvo pilnai atitirpinti ir sulyginti kambario temperatūroje ir kad jiems pilnai pakako laiko, kad jų temperatūra susilygintų. Jeigu mėginiai buvo laikomi 2–8°C, juos taip pat reikia sulyginti kambario temperatūroje. Prieš pradėdant procedūrą, visų mėginių temperatūra turi būti 15–25°C, kad būtų galima užtikrinti optimalų išgavimą ir DNR grynumą.

2. Pilnai įdėkite EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood kortelę į EZ1 Advanced XL EZ1 kortelės angą.

3. Įjunkite EZ1 instrumentą.

Elektros energijos tiekimo mygtukas instrumento užpakalyje.

4. Paspauskite “START”, kad pradėtumėte darbą su protokolu ir EZ1 DSP DNA Blood protokolo darbastalio nustatymą

5. Atlikite ekrane nurodytas darbastalio nustatymo, protokolo kintamųjų pasirinkimo bei duomenų atsekimo instrukcijas.

6. Atitinkamai paspauskite “1” ar “2”, kad pradėtumėte 200 µl DSP protokolo ar 350 µl protokolo darbastalio nustatymą.

7. Pasirinkite išplovimo kiekį: spauskite “1”, kad išplautumėte 50 µl; “2”, kad išplautumėte 100 µl; “3”, kad išplautumėte 200 µl.

8. Pasirinkite, ar norite atlikti pasirenkamus plovimus su 80% etanoliu.

Tekste trumpai aptarti tolesni veiksmai, kuriuose aprašytas darbastalio sudėjimas.

9. Atidarykite instrumento dureles.

10. 4 kartus apverskite 1–14 reagentų kasetes (RCB), kad išmaišytumėte magnetines daleles. Tada paplekšnokite kasetes (RCB), kad reagentai nusėstų į šulinėlių dugną.

11. Sudėkite reagentų kasetes į kasečių stovą.

i Įstūmę reagento kasetę (RCB) į kasečių stovą, spauskite kasetę žemyn, kol ji įsitvirtins savo vietoje.

i Atsekdami duomenis, visada pradėkite dėti mėginius į EZ1 Advanced XL 1 padėtį. Iš eilės patalpinkite likusius mėginius į kitas laisvas darbastalio padėtis.

Naudodami duomenų atsekimo pasirinktį, įsitinkite, kad mėginio ID eina ta pačia tvarka, kaip mėginiai darbastalyje, kad išvengtumėte duomenų susimaišymo.

12. Atlikite ekrane nurodytas tolesnio darbastalio nustatymo instrukcijas.

13. Uždarykite instrumento dureles.

14. Paspauskite “START”, kad pradėtumėte darbą su protokolu.

15. Pasibaigus darbui su protokolu, ekrane parašoma “Protocol finished”. Norėdami generuoti ataskaitos failą, spauskite “ENT”.
EZ1 Advanced XL galima išsaugoti iki 10 ataskaitų failų. Ataskaitų failus galima tiesiogiai išspausdinti su prijungtu spausdintuvu arba perkelti į kompiuterį.


16. Atidarykite instrumento dureles.

17. Išimkite išplovimo mėgintuvėlius su išgrynintomis DNR iš pirmos eilės. Išmeskite mėginio-ruošinio atliekas.*

18. Pasirenkamai: Atlikite ekrane nurodytas instrukcijas, kad nukenksmintumėte darbatalio paviršius su UV.

19. Reguliariai atlikite vartotojo vadove, tiekiamame su jūsų EZ1 instrumentu, aprašytas priežiūros procedūras.

Reguliarus priežiūros darbus reikia atlikti kiekvienos protokolo procedūros pabaigoje. Į juos įeina pradūrimo įtaiso ir darbatalio paviršių išvalymas.

 Pradūrimo įtaisas yra aštrus! Rekomenduojama naudoti dvigubas pirštines.

20. Norėdami dirbti su kitu protokolu, paspauskite “START”, atlikite protokole nurodytus 1 ir 2 veiksmus, o po to atlikite protokole atrodytus veiksmus nuo 5 veiksmo. Priešingu atveju du kartus paspauskite “STOP” ir grįšite į pirmą displėjaus ekraną, o tada uždarykite instrumento dureles ir išjunkite EZ1 instrumentą.

3–4 veiksmai dirbant su kitu protokolu nėra reikalingi. Praleiskite šiuos veiksmus.

* Mėginio atliekose yra guanidino druskų, todėl jos nesuderinamos su balikliu. Įspėjimai ir atsargumo priemonės rasite 7 psl.

Protokolas: Genominių DNR iš viso kraujo išgryninimas naudojant EZ1 Advanced (su V2.0 kortele)

Šis protokolas yra skirtas naudoti su EZ1 Advanced DSP DNA Blood kortele V2.0, atnaujinta originalios V1.0 kortelės versija. Naudodami V1.0 kortelę, atlikite “Protokolas: Genominių DNR iš viso kraujo išgryninimas naudojant EZ1 Advanced (su V1.0 kortele)”, 40 psl.

Į protokolą su V2.0 kortele įeina papildomos protokolo pasirinktys, leidžiančios naudoti įvairius mėginio sąnaudų ir išplovimo kiekius bei atlikti pasirenkamo plovimo su 80% etanoliu veiksmus. Protokolas su V2.0 kortele prilygsta originaliai V1.0 kortelei, kai naudojami originalūs sąnaudų ir išplovimo kiekiai bei plovimo buferiai.

Svarbūs nurodymai prieš pradėdant

- Jeigu naudojate EZ1 DSP DNA Blood rinkinį pirmą kartą, perskaitykite “Svarbias pastabas” 27 psl.
- Reagentų kasetėse (RCB) yra guanidino druskų ir todėl jos nesuderinamos su dezinfekciniais reagentais, kuriuose yra baliklio. Dirbdami imkitės atitinkamų saugumo priemonių ir dėvėkite pirštines. Saugumo informaciją rasite **Fehler! Textmarke nicht definiert.** psl.
- Visus protokole nurodytus veiksmus atlikite kambario temperatūroje (15–25°C). Nustatymo procedūros metu dirbkite greitai.
- Gavę rinkinį, patikrinkite rinkinio komponentus, ar jie nepažeisti. Jeigu reagentų kasetės (RCB) ar kiti rinkinio komponentai yra pažeisti, susisiekite su QIAGEN technine pagalba arba savo vietiniu platintoju. Jeigu išsipiltų skystis, žr. “Įspėjimai ir atsargumo priemonės” (6 psl.). Nenaudokite pažeistų reagentų kasečių (RCB) ar kitų rinkinio komponentų, nes juos naudojant gali blogai veikti rinkinys.
- Genominių DNR išgavimas priklauso nuo baltųjų kraujo kūnelių skaičiaus mėginyje.

Veiksmai, kuriuos reikia atlikti prieš pradėdant

- Lizės buferis reagento kasetėje (RCB) laikant gali suformuoti nuosėdas. Prieš naudojimą išbalansuojant reagentų kasetėje (RCB) iki kambario temperatūros. Prireikus pakartotinai jį ištirpinkite, šildydami 30–40°C, o po to patalpinkite kambario temperatūroje.

- Į protokolą įeina pasiūlymas atlikti plovimus su 80% etanoliu, o ne su reagento kasetėje tiekiamu buferiu. Atliekant kai kurias pasrovines procedūras, tai gali būti naudinga. Jeigu atliekate šią pasirinktą, darbatalio 3 eilėje patalpinkite 2 ml mėgintuvėlius, kurių kiekviename yra 1800 µl 80% etanolio (žr. 12 pav. 31 psl.). Norėdami paruošti 80% etanolio, kurio pakaktų 6 mėginiams, pripilkite 3 ml vandens be nukleazės į 12 ml 100% ethanolio.* Laikykitės ekrane rodomuose pranešimuose pateiktų instrukcijų.

Procedūra

1. Sulyginkite 14 viso kraujo mėginių kambario temperatūroje.

i Įsitikinkite, kad šaldyti mėginiai buvo pilnai atitirpinti ir sulyginti kambario temperatūroje ir kad jiems pilnai pakako laiko, kad jų temperatūra susilygintų. Jeigu mėginiai buvo laikomi 2–8°C, juos taip pat reikia sulyginti kambario temperatūroje. Prieš pradėdant procedūrą, visų mėginių temperatūra turi būti 15–25°C, kad būtų galima užtikrinti optimalų išgavimą ir DNR grynumą.

2. Pilnai įdėkite EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood kortelę (V2.0) į EZ1 Advanced XL EZ1 kortelės angą.

3. Įjunkite EZ1 instrumentą.

Elektros energijos tiekimo mygtukas instrumento užpakalyje.

4. Paspauskite “START”, kad pradėtumėte darbą su protokolu ir EZ1 DSP DNA Blood protokolo darbatalio nustatymą

5. Atlikite ekrane nurodytas darbatalio nustatymo, protokolo kintamųjų pasirinkimo bei duomenų atsekimo instrukcijas.

6. Atitinkamai paspauskite “1” ar “2”, kad pradėtumėte 200 µl DSP protokolo ar 350 µl protokolo darbatalio nustatymą.

7. Pasirinkite išplovimo kiekį: spauskite “1”, kad išplautumėte 50 µl; “2”, kad išplautumėte 100 µl; “3”, kad išplautumėte 200 µl.

8. Pasirinkite, ar norite atlikti pasirenkamus plovimus su 80% etanoliu.


Tekste trumpai aptarti tolesni veiksmai, kuriuose aprašytas darbatalio sudėjimas.


9. Atidarykite instrumento dureles.

10. 4 kartus apverskite 1–6 reagentų kasetes (RCB), kad išmaišytumėte magnetines daleles. Tada pappleškinkite kasetes (RCB), kad reagentai nusėstų į šulinėlių dugną.

* Nenaudokite denatūruoto alkoholio, kuriame yra kitų substancijų, pvz., metanolio ar metiletilketono.

11. Sudėkite reagentų kasetes į kasečių stovą.

 Įstūmę reagento kasetę (RCB) į kasečių stovą, spauskite kasetę žemyn, kol ji įsitvirtins savo vietoje.

 Atsekdami duomenis, visada pradėkite dėti mėginius į EZ1 Advanced XL A padėtį. Iš eilės patalpinkite likusius mėginius į kitas laisvas darbatalio padėtis.

Naudodami duomenų atsekimo pasirinktį, įsitikinkite, kad mėginio ID eina ta pačia tvarka, kaip mėginiai darbatalyje, kad išvengtumėte duomenų susimaišymo.

12. Atlikite ekrane nurodytas tolesnio darbatalio nustatymo instrukcijas.

13. Uždarykite instrumento dureles.

14. Paspauskite “START”, kad pradėtumėte darbą su protokolu.

15. Pasibaigus darbui su protokolu, ekrane parašoma “Protocol finished”. Norėdami generuoti ataskaitos failą, spauskite “ENT”.

EZ1 Advanced XL galima išsaugoti iki 10 ataskaitų failų. Ataskaitų failus galima tiesiogiai išspausdinti su prijungtu spausdintuvu arba perkelti į kompiuterį.


16. Atidarykite instrumento dureles.

17. Išimkite išplovimo mėgintuvėlius su išgrynintomis DNR iš pirmos eilės. Išmeskite mėginio-ruošinio atliekas.*

18. Pasirenkamai: Atlikite ekrane nurodytas instrukcijas, kad nukenksmintumėte darbatalio paviršius su UV.

19. Reguliariai atlikite vartotojo vadove, tiekiamame su jūsų EZ1 instrumentu, aprašytas priežiūros procedūras.

Reguliarius priežiūros darbus reikia atlikti kiekvienos protokolo procedūros pabaigoje. Į juos įeina pradūrimo įtaiso ir darbatalio paviršių išvalymas.

 Pradūrimo įtaisas yra aštrus! Rekomenduojama naudoti dvigubas pirštines.

20. Norėdami dirbti su kitu protokolu, paspauskite “START”, atlikite protokole nurodytus 1 ir 2 veiksmus, o po to atlikite protokole atrodytus veiksmus nuo 5 veiksmo. Priešingu atveju du kartus paspauskite “STOP” ir grįšite į pirmą displėjaus ekraną, o tada uždarykite instrumento dureles ir išjunkite EZ1 instrumentą.

3–4 veiksmai dirbant su kitu protokolu nėra reikalingi. Praleiskite šiuos veiksmus.

* Mėginio atliekose yra guanidino druskų, todėl jos nesuderinamos su balikliu. Saugumo informaciją rasite 6 psl.

Protokolas: Genominių DNR iš viso kraujo išgryninimas naudojant EZ1 Advanced (su V1.0 kortele)

Šis protokolas yra skirtas naudoti su EZ1 Advanced DSP DNA Blood kortele V1.0. Naudodami V2.0 kortelę, atlikite “Protokolas: Genominių DNR iš viso kraujo išgryninimas naudojant EZ1 Advanced (su V2.0 kortele)”, 37 psl.

Į protokolą su V2.0 kortele įeina papildomos protokolo pasirinktys, leidžiančios naudoti įvairius mėginio sąnaudų ir išplovimo kiekius bei atlikti pasirenkamo plovimo su 80% etanoliu veiksmus. Protokolas su V2.0 kortele prilygsta originaliai V1.0 kortelei, kai naudojami originalūs sąnaudų ir išplovimo kiekiai bei plovimo buferiai.

Svarbūs nurodymai prieš pradėdant


- Jeigu naudojate EZ1 DSP DNA Blood rinkinį pirmą kartą, perskaitykite “Svarbias pastabas” 27 psl.
- Reagentų kasetėse (RCB) yra guanidino druskų ir todėl jos nesuderinamos su dezinfekciniais reagentais, kuriuose yra baliklio. Dirbdami imkitės atitinkamų saugumo priemonių ir dėvėkite pirštines. Saugumo informaciją rasite 6 psl.
- Visus protokole nurodytus veiksmus atlikite kambario temperatūroje (15–25°C). Nustatymo procedūros metu dirbkite greitai.
- Gavę rinkinį, patikrinkite rinkinio komponentus, ar jie nepažeisti. Jeigu reagentų kasetės (RCB) ar kiti rinkinio komponentai yra pažeisti, susisiekite su QIAGEN technine pagalba arba savo vietiniu platintoju. Jeigu išsipiltų skystis, žr. “Įspėjimai ir atsargumo priemonės” (6 psl.). Nenaudokite pažeistų reagentų kasečių (RCB) ar kitų rinkinio komponentų, nes juos naudojant gali blogai veikti rinkinys.
- Genominių DNR išgavimas priklauso nuo baltųjų kraujo kūnelių skaičiaus mėginyje.

Veiksmai, kuriuos reikia atlikti prieš pradėdant

- Lizės buferis reagento kasetėje (RCB) laikant gali suformuoti nuosėdas. Prieš naudojimą išbalansuojant reagentų kasetėje (RCB) iki kambario temperatūros. Prireikus pakartotinai jį ištirpinkite, šildydami 30–40°C, o po to patalpinkite kambario temperatūroje.

Procedūra

1. Sulyginkite iki 6 viso kraujo mėginių kambario temperatūroje.

 Įsitinkite, kad šaldyti mėginiai buvo pilnai atitirpinti ir sulyginti kambario temperatūroje ir kad jiems pilnai pakako laiko, kad jų temperatūra susilygintų. Jeigu mėginiai buvo laikomi 2–8°C, juos taip pat reikia sulyginti kambario temperatūroje. Prieš pradėdant procedūrą, visų mėginių temperatūra turi būti 15–25°C, kad būtų galima užtikrinti optimalų išgavimą ir DNR grynumą.

2. Pilnai įdėkite EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood kortelę (V1.0) į EZ1 Advanced XL EZ1 kortelės angą.

3. Įjunkite EZ1 instrumentą.


Elektros energijos tiekimo mygtukas instrumento užpakalyje.


4. Paspauskite “START”, kad pradėtumėte darbą su protokolu ir EZ1 DSP DNA Blood protokolo darbastalio nustatymą.

5. Atidarykite instrumento dureles.

6. 4 kartus apverskite 1–6 reagentų kasetes (RCB), kad išmaišytumėte magnetines daleles. Tada papelekšnokite kasetes (RCB), kad reagentai nusėstų į šulinėlių dugną.

7. Atlikite ekrane nurodytas darbastalio nustatymo, protokolo kintamųjų pasirinkimo bei duomenų atsekimo instrukcijas.

 Įstūmę reagento kasetę (RCB) į kasečių stovą, spauskite kasetę žemyn, kol ji įsitvirtins savo vietoje.

 Atsekdami duomenis, visada pradėkite dėti mėginius į EZ1 Advanced XL A padėtį. Iš eilės patalpinkite likusius mėginius į kitas laisvas darbastalio padėtis.

Naudodami duomenų atsekimo pasirinktį, įsitinkite, kad mėginio ID eina ta pačia tvarka, kaip mėginiai darbastalyje, kad išvengtumėte duomenų susimaišymo.

8. Uždarykite instrumento dureles.

9. Paspauskite “START”, kad pradėtumėte darbą su protokolu.

10. Pasibaigus darbui su protokolu, ekrane parašoma “Protocol finished”. Norėdami generuoti ataskaitos failą, spauskite “ENT”.

EZ1 Advanced XL galima išsaugoti iki 10 ataskaitų failų. Ataskaitų failus galima tiesiogiai išspausdinti su prijungtu spausdintuvu arba perkelti į kompiuterį.


11. Atidarykite instrumento dureles.

12. Išimkite išplovimo mėgintuvėlius su išgrynintomis DNR iš pirmos eilės. Išmeskite mėginio-ruošinio atliekas.*

13. Pasirenkamai: Atlikite ekrane nurodytas instrukcijas, kad nukenksmintumėte darbatalio paviršius su UV.

14. Reguliariai atlikite vartotojo vadove, tiekiamame su jūsų EZ1 instrumentu, aprašytas priežiūros procedūras.

Reguliarus priežiūros darbus reikia atlikti kiekvienos protokolo procedūros pabaigoje. Į juos įeina pradūrimo įtaiso ir darbatalio paviršių išvalymas.

 Pradūrimo įtaisas yra aštrus! Rekomenduojama naudoti dvigubas pirštines.

15. Norėdami dirbti su kitu protokolu, paspauskite “START”, atlikite protokole nurodytus 1 ir 2 veiksmus, o po to atlikite protokole atrodytus veiksmus nuo 5 veiksmo. Priešingu atveju du kartus paspauskite “STOP” ir grįšite į pirmą displėjaus ekraną, o tada uždarykite instrumento dureles ir išjunkite EZ1 instrumentą.

3–4 veiksmams dirbant su kitu protokolu nėra reikalingi. Praleiskite šiuos veiksmus.

* Mėginio atliekose yra guanidino druskų, todėl jos nesuderinamos su balikliu. Įspėjimai ir atsargumo priemonės rasite 6 psl.

Protokolas: Genominių DNR iš viso kraujo išgryninimas naudojant BioRobot EZ1 DSP

Svarbūs nurodymai prieš pradėdant


- Jeigu naudojate EZ1 DSP DNA Blood rinkinį pirmą kartą, perskaitykite “Svarbias pastabas” 27 psl.
- Reagentų kasetėse (RCB) yra guanidino druskų ir todėl jos nesuderinamos su dezinfekciniais reagentais, kuriuose yra baliklio. Dirbdami imkitės atitinkamų saugumo priemonių ir dėvėkite pirštines. Saugumo informaciją rasite 6 psl.
- Visus protokole nurodytus veiksmus atlikite kambario temperatūroje (15–25°C). Nustatymo procedūros metu dirbkite greitai.
- Gavę rinkinį, patikrinkite rinkinio komponentus, ar jie nepažeisti. Jeigu reagentų kasetės (RCB) ar kiti rinkinio komponentai yra pažeisti, susisiekite su QIAGEN technine pagalba arba savo vietiniu platintoju. Jeigu išsipiltų skystis, žr. “Įspėjimai ir atsargumo priemonės” (6 psl.). Nenaudokite pažeistų reagentų kasečių (RCB) ar kitų rinkinio komponentų, nes juos naudojant gali blogai veikti rinkinys.
- Genominių DNR išgavimas priklauso nuo baltųjų kraujo kūnelių skaičiaus mėginyje.

Veiksmai, kuriuos reikia atlikti prieš pradėdant

- Lizės buferis reagento kasetėje (RCB) laikant gali suformuoti nuosėdas. Prireikus pakartotinai jį ištirpinkite, šildydami 30–40°C, o po to patalpinkite kambario temperatūroje.

Procedūra

1. Sulyginkite iki 6 viso kraujo mėginių kambario temperatūroje.

 Įsitinkinkite, kad šaldyti mėginiai buvo pilnai atitirpinti ir sulyginti kambario temperatūroje ir kad jiems pilnai pakako laiko, kad jų temperatūra susilygintų. Jeigu mėginiai buvo laikomi 2–8°C, juos taip pat reikia sulyginti kambario temperatūroje. Prieš pradėdant procedūrą, visų mėginių temperatūra turi būti 15–25°C, kad būtų galima užtikrinti optimalų išgavimą ir DNR grynumą.

2. Pilnai įdėkite EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood kortelę į BioRobot EZ1 DSP EZ1 kortelės angą.

3. Įjunkite EZ1 instrumentą.

Elektros energijos tiekimo mygtukas instrumento užpakalyje.

4. Paspauskite “START”, kad pradėtumėte darbą su protokolu ir EZ1 DSP DNA Blood protokolo darbatalio nustatymą.

5. **Atidarykite instrumento dureles.**
6. **4 kartus apverskite 1–6 reagentų kasetes (RCB), kad išmaišytumėte magnetines daleles. Tada papplešnokite kasetes (RCB), kad reagentai nusėstų į šulinėlių dugną.**
7. **Atlikite ekrane nurodytas darbatalio nustatymo, protokolo kintamųjų pasirinkimo bei duomenų atsekimo instrukcijas.**
 - i** Įstūmę reagento kasetę (RCB) į kasečių stovą, spauskite kasetę žemyn, kol ji įsitvirtins savo vietoje.
 - i** Jeigu yra mažiau kaip 6 reagentų kasetės (RCB), jas galima sudėti stovė bet kokia tvarka. Tačiau dėdami kitus laboratorinius reikmenis, įsitikinkite, kad jie sudėti tokia pačia tvarka.
8. **Uždarykite instrumento dureles.**
9. **Paspauskite “START”, kad pradėtumėte darbą su protokolu. Pasibaigus darbui su protokolu, ekrane parašoma “Protocol finished”.**
10. **Atidarykite instrumento dureles.**
11. **Išimkite išplovimo mėgintuvėlius su išgrynintomis DNR iš pirmos eilės. Išmeskite mėginio-ruošinio atliekas.***
12. **Reguliariai atlikite vartotojo vadove, tiekiamame su jūsų EZ1 instrumentu, aprašytas priežiūros procedūras.**

Regularius priežiūros darbus reikia atlikti kiekvienos protokolo procedūros pabaigoje. Į juos įeina pradūrimo įtaiso ir darbatalio paviršių išvalymas.

 - i** Pradūrimo įtaisas yra aštrus! Rekomenduojama naudoti dvigubas pirštines.
13. **Norėdami dirbti su kitu protokolu, paspauskite “START”, atlikite protokole nurodytus 1 ir 2 veiksmus, o po to atlikite protokole atrodytus veiksmus nuo 5 veiksmo. Priešingu atveju du kartus paspauskite “STOP” ir grįšite į pirmą displėjaus ekraną, o tada uždarykite instrumento dureles ir išjunkite EZ1 instrumentą.**

3–4 veiksmai dirbant su kitu protokolu nėra reikalingi. Praleiskite šiuos veiksmus.

* Mėginio atliekose yra guanidino druskų, todėl jos nesuderinamos su balikliu. Saugumo informaciją rasite 6 psl.


Gedimų lokalizavimas

Čia aprašytas gedimų lokalizavimas gali būti naudingas sprendžiant problemas, kurių gali atsirasti. Daugiau informacijos taip pat rasite mūsų techninės pagalbos centro dažnai užduodamų klausimų puslapyje: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. QIAGEN techninės pagalbos centro mokslininkams visada malonu atsakyti į jums iškylančius klausimus, susijusius su šiame vadove pateikta informacija ir protokolais arba mėginių ir bandymų technologijomis (kontaktinę informaciją rasite užpakaliniame viršelyje arba apsilankykite www.qiagen.com).

Komentari ir pasiūlymai


Bendras darbas

Klaidos pranešimas
instrumento ekrane


 Pasiskaitykite su jūsų EZ1 instrumentu
tiekiamą vartotojo vadovą.

Mažas DNR išgavimas


a) Nepilnai gauta
pakartotinė magnetinių
dalelių suspensija

 Prieš sudėdami į laikiklį reagentų kasetes
(RCB), įsitikinkite, kad kruopščiai paruošėte
pakartotinę magnetinių dalelių suspensiją.


b) Nepakankamai
įsiurbtas reagentas

 Vartydami reagentų kasetes (RCB), kad
paruoštumėte pakartotinę magnetinių dalelių
suspensiją, įsitikinkite, kad papplekšnojote
reagentų kasetes (RCB), kad reagentai nusėstų
šulinėlių dugne.

c) Šaldyti kraujo mėginiai
po atitirpinimo
neteisingai išmaišyti

 Atitirpinkite šaldytus mėginius
inkubatoriuje* arba vandens vonelėje* 30–40°C
švelniai sukdami, kad gerai išmaišytumėte.




d) Reagentų kasečių
(RCB) šulinėlių dugne
matomos nuosėdos

 Patalpinkite reagentų kasetes (RCB) į
purtyklę inkubatorių ir inkubuokite 30–40°C
švelniai sukdami iki 2 val. Nenaudokite reagentų
kasečių (RCB), jeigu nuosėdos pakartotinai
neištirpo.


* Įsitikinkite, kad instrumentai buvo reguliariai tikrinami, prižiūrimi ir kalibruojami pagal gamintojo rekomendacijas.

Komentarai ir pasiūlymai

DNR gerai nefunkcionuoja pasroviniuose pritaikymuose

- a) Pasroviniame pritaikyme naudojama nepakankamai DNR  Apskaičiuokite išgrynintų DNR kiekį, naudodamiesi absorbcijos spektrofotometriniu matavimu esant 260 nm (žr. "DNR kiekio apskaičiavimas", 70 psl.).
- b) Pasroviniame pritaikyme naudojama per daug DNR  DNR perteklius gali slopinti kai kurias enzymų reakcijas. some enzymatic reactions. Apskaičiuokite išgrynintų DNR kiekį, naudodamiesi absorbcijos spektrofotometriniu matavimu esant 260 nm (žr. "DNR kiekio apskaičiavimas", 70 psl.).
- c) Pasrovinio pritaikymo slopinimas  Kai kurių pasrovinių pritaikymų veikimas gali būti puikus, jeigu vietoj reagentų kasetėse esančių buferių atliekamas plovimas su 80% etanoliu. Ši pasirinktis yra galima naudojant EZ1 Advanced DSP DNA Blood kortelę V2.0 (žr. 37 psl.) arba EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood kortelę (žr. 34 psl.).

Mažas išgrynintų nukleino rūgščių A_{260}/A_{280} santykis

- Absorbavimo rodmuo esant 320 nm neatimtas iš absorbavimo rodmenų, gautų su 260 nm ir 280 nm  Norint patikslinti magnetinių dalelių buvimą išplovose, reikia paimti absorbavimo rodmenį esant 320 nm ir atimti iš absorbavimo rodmenų, gautų su 260 nm ir 280 nm.

A priedas: Ekране rodomi pranešimai

Pranešimai, kuriuos programinės įrangos protokolas parodo ekrane nustatant darbatalį, vykstant protokolo darbui ir atlikus protokolo darbą, yra išvardinti 6–9 lentelėse. Lentelėse išvardintų pranešimų numeriai atitinka programinės įrangos rodomų pranešimų numerius.

Bendrus klaidų pranešimus, rodomus EZ1 instrumento ekrane, rasite vartotojo vadove, tiekiamame su jūsų EZ1 instrumentu.

6 lentelė. EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood protokolo pranešimai

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced XL pranešimo tekstas
Nėra	Pamokymas	Date/time START: Run 1: UV 3: Test 2: Man 4: Setup
1	Pamokymas	EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Version 1.0
2	Duomenų atsekimas	Enter user ID ENT: Next
3	Duomenų atsekimas	Enter Q-Card bar code ENT: Next
4	Pamokymas	Wrong kit! Please load DSP DNA Blood kit ENT: Back
5	Pamokymas	Kit expired! MMYY: ENT: Use new kit ESC: stop protocol
6	Duomenų atsekimas	Use Q-Card data with sample 1 to [X] Enter 1 to 14 ENT: Next

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

6 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced XL pranešimo tekstas
7	Duomenų atsekimas	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: No
8	Duomenų atsekimas	Do you want to add sample IDs? ENT: Yes ESC: No
9	Duomenų atsekimas	Enter sample ID for sample no. [x] ENT: Next
10	Duomenų atsekimas	Do you want to check sample IDs? ENT: Yes ESC: No
11	Duomenų atsekimas	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next
12	Duomenų atsekimas	ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: Next, UP: Back
13	Duomenų atsekimas	ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: Next, UP: Back
14	Duomenų atsekimas	ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Next, UP: Back

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

6 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced XL pranešimo tekstas
15	Duomenų atsekimas	ID 13: ID 14: ESC: Rescan ENT: Next, UP: Back
16	Duomenų atsekimas	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No
17	Duomenų atsekimas	Enter assay ID for sample no.[X] ENT: Next
18	Duomenų atsekimas	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No
19	Duomenų atsekimas	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No
20	Duomenų atsekimas	Enter notes for sample no. [x] ENT: Next
21	Duomenų atsekimas	Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No
22	Pamokymas	Select protocol 1: 200ul DSP Blood 2: 350ul DSP Blood Choose 1 or 2

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

6 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced XL pranešimo tekstas
23	Pamokymas	Select elution volume: 1: 50ul 2: 100ul 3: 200ul
24	Pamokymas	Pure ethanol wash? 1: No 2: Yes Choose 1 or 2
25	Pamokymas	You have chosen: [xxx]ul blood, EtOH [xxx]ul elution ENT: Next, ESC: Back
26	Pamokymas	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back
27	Pamokymas	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row ENT: Next, ESC: Back
28	Pamokymas	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ENT: Next, ESC: Back
29	Pamokymas	Load 2ml tubes with 1800ul 80% EtOH into third row ENT: Next, ESC: Back
30	Pamokymas	Load 2ml tubes (ST) with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

6 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced XL pranešimo tekstas
31	Pamokymas	Loading finished Close door and press START ESC: Back
32	Pamokymas	Please close door! ENT: Next
33	Būsena	Protocol started
34	Būsena	Piercing foil [x] of [x] min left
35	Būsena	Collecting Elution Buffer [x] of [x] min left
36	Būsena	Deliver at heat block [x] of [x] min left
37	Būsena	Collecting Beads [x] of [x] min left
38	Būsena	Resuspension of Beads [x] of [x] min left
39	Būsena	Collecting Lysis Buffer [x] of [x] min left
40	Būsena	Mixing Lysate [x] of [x] min left

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

6 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced XL pranešimo tekstas
41	Būsena	Collecting Beads [x] of [x] min left
42	Būsena	DNR binding to Beads Magnetic separation [x] of [x] min left
43	Būsena	Wash 1 Magnetic separation [x] of [x] min left
44	Būsena	Wash 2 Magnetic separation [x] of [x] min left
45	Būsena	Wash 3 Magnetic separation [x] of [x] min left
46	Būsena	Wash 4 Magnetic separation [x] of [x] min left
47	Būsena	Rinse [x] of [x] min left
48	Būsena	Check Temp. Set: Cur: [x] of [x] min left
49	Būsena	Elution [x] of [x] min left
50	Pamokymas	Protocol finished! ENT: Next

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

6 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced XL pranešimo tekstas
51	Būsena	Transferring report file Attempt no.
52	Nėra	
None	Pamokymas	SEND REPORT Print out o.k.? 1: o.k. 2: not o.k. ESC:Back
53	Būsena	Report file sent ENT: Next
54	Būsena	Report file could not be sent ENT: Resend
55	Pamokymas	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No
56	Pamokymas	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next
57	Pamokymas	UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next
58	Pamokymas	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort
59	Pamokymas	UV decontamination. Enter 20 to 60 ENT: Next

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

6 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced XL pranešimo tekstas
60	Pamokymas	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back
61	Pamokymas	UV lamp did not ignite! ESC: Back
62	Pamokymas	UV decontamination Total time: min Time left: min
63	Būsena	Decontamination UV lamps cooling Please stand by
64	Pamokymas	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu

7 lentelė. EZ1 Advanced DSP DNA Blood protokolo (V2.0) pranešimai

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced pranešimo tekstas (V2.0 protokolas)
Nėra	Pamokymas	Date/time START:Run 1:UV 2:Man 3:Test 4:Setup Key: START,1,2,3,4
1	Pamokymas	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Version 2.0
2	Duomenų atsekimas	Enter user ID ENT: Next
3	Duomenų atsekimas	Enter Q-Card bar code ENT: Next
4	Pamokymas	Wrong kit! Please load DSP DNA Blood kit ENT: Back
5	Pamokymas	Kit expired! MMYY: ENT: Use new kit ESC: Stop protocol
6	Duomenų atsekimas	Use Q-Card data with sample 1 to [X] Enter 1 to 6 ENT: Next
7	Duomenų atsekimas	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: No

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

7 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced pranešimo tekstas (V2.0 protokolas)
8	Duomenų atsekimas	Do you want to add sample IDs? ENT: Yes ESC: No
9	Duomenų atsekimas	Enter sample ID for sample no. [x] ENT: Next
10	Duomenų atsekimas	Do you want to check sample IDs? ENT: Yes ESC: No
11	Duomenų atsekimas	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next
12	Duomenų atsekimas	ID 4: ID 5: ID 6: ENT:Next; Esc:Rescan
13	Nėra	
14	Nėra	
15	Nėra	
16	Duomenų atsekimas	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No
17	Duomenų atsekimas	Enter assay ID for sample no.[X] ENT: Next

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

7 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced pranešimo tekstas (V2.0 protokolas)
18	Duomenų atsekimas	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No
19	Duomenų atsekimas	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No
20	Duomenų atsekimas	Enter notes for sample no. [x] ENT: Next
21	Duomenų atsekimas	Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No
22	Pamokymas	Select protocol 1: 200ul DSP Blood 2: 350ul DSP Blood Choose 1 or 2
23	Pamokymas	Select elution volume: 1: 50ul 2: 100ul 3: 200ul
24	Pamokymas	Pure ethanol wash? 1: No 2: Yes Choose 1 or 2
25	Pamokymas	You have chosen: [xxx]ul blood, EtOH [xxx]ul elution ENT: Next, ESC: Back

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

7 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced pranešimo tekstas (V2.0 protokolas)
26	Pamokymas	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back
27	Pamokymas	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row ENT: Next, ESC: Back
28	Pamokymas	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ENT: Next, ESC: Back
29	Pamokymas	Load 2ml tubes with 1800ul 80% EtOH into third row ENT: Next, ESC: Back
30	Pamokymas	Load 2ml tubes (ST) with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back
31	Pamokymas	Loading finished Close door and press START ESC: Back
32	Pamokymas	Please close door! ENT: Next
33	Būsena	Protocol started
34	Būsena	Piercing foil [x] of [x] min left

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

7 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced pranešimo tekstas (V2.0 protokolas)
35	Būsena	Collecting Elution Buffer [x] of [x] min left
36	Būsena	Deliver at heat block [x] of [x] min left
37	Būsena	Collecting Beads [x] of [x] min left
38	Būsena	Resuspension of Beads [x] of [x] min left
39	Būsena	Collecting Lysis Buffer [x] of [x] min left
40	Būsena	Mixing Lysate [x] of [x] min left
41	Būsena	Collecting Beads [x] of [x] min left
42	Būsena	DNR binding to Beads Magnetic separation [x] of [x] min left
43	Būsena	Wash 1 Magnetic separation [x] of [x] min left
44	Būsena	Wash 2 Magnetic separation [x] of [x] min left

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

7 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced pranešimo tekstas (V2.0 protokolas)
45	Būsena	Wash 3 Magnetic separation [x] of [x] min left
46	Būsena	Wash 4 Magnetic separation [x] of [x] min left
47	Būsena	Rinse [x] of [x] min left
48	Būsena	Check Temp. Set: Cur: [x] of [x] min left
49	Būsena	Elution [x] of [x] min left
50	Pamokymas	Protocol finished! ENT: Next
51	Būsena	Transferring report file Attempt no.
52	Nėra	
None	Pamokymas	SEND REPORT Print out o.k? 1=o.k Key: 1, 2, ESC 2=not o.k
53	Būsena	Report file sent ENT: Next
54	Būsena	Report file could not be sent ENT: Resend

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

7 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced pranešimo tekstas (V2.0 protokolas)
55	Pamokymas	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No
56	Pamokymas	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next
57	Pamokymas	UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next
58	Pamokymas	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort
59	Pamokymas	UV decontamination. Enter 20 to 60 ENT: Next
60	Pamokymas	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back
61	Pamokymas	UV lamp did not ignite! ESC: Back
62	Pamokymas	UV decontamination Total time: min Time left: min

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

7 lentelė. Tęsinys

Message number	Message type	EZ1 Advanced message text (V2.0 protocol)
63	Būseną	Decontamination UV lamps cooling Please stand by
64	Pamokymas	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu

8 lentelė. EZ1 Advanced DSP DNA Blood protokolo (V1.0) pranešimai

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced pranešimo tekstas (V1.0 protokolas)
None	Pamokymas	Date/Time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4
1	Pamokymas	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Version 1.0
2	Duomenų atsekimas	Scan/enter user ID
3	Duomenų atsekimas	Scan/enter Q-Card bar code
4	Pamokymas	Wrong kit! Please load EZ1 DSP DNA Blood ENT: back
5	Pamokymas	Kit expired ENT: Use new kit ESC: Stop protocol
6	Duomenų atsekimas	Use Q-Card data with sample no. 1 to Enter 1 to 6
7	Pamokymas	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: No
8	Duomenų atsekimas	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No
9	Duomenų atsekimas	Scan/enter sample ID sample no. [x]

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

8 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced pranešimo tekstas (V1.0 protokolas)
10	Duomenų atsekimas	ID1: ID2: ID3: Next=ENT
11	Duomenų atsekimas	ID1: ID2: ID3: Next=ENT, ID1-3=Up
12	Duomenų atsekimas	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No
13	Duomenų atsekimas	Scan/enter assay ID sample no. [x]
14	Duomenų atsekimas	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No
15	Duomenų atsekimas	Scan/enter notes sample no. [x]
16	Pamokymas	The protocol use Sample Volume: 350ul Elution Volume: 200ul Next=Any
17	Pamokymas	Load cartridges at same positions as samples Next=Any, Prev=Esc
18	Pamokymas	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row Next=Any, Prev=Esc
19	Pamokymas	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=Esc
20	Pamokymas	Leave third row empty Next=Any, Prev=Esc

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

8 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced pranešimo tekstas (V1.0 protokolas)
21	Pamokymas	Load 2.0 ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev=Esc
22	Pamokymas	Loading finished. Close door and press START Prev=Esc
23	Pamokymas	Please close door!
24	Būsena	Protocol started
25	Būsena	Piercing Foil [x] of 23 min left
26	Būsena	Collecting Elution Buffer [x] of 23 min left
27	Būsena	Deliver at Heat Block [x] of 23 min left
28	Būsena	Collecting Magnetic Beads [x] of 23 min left
29	Būsena	Resuspension of Magnetic Beads [x] of 23 min left
30	Būsena	Adding Lysis Buffer [x] of 23 min left
31	Būsena	Mixing Lysate [x] of 23 min left
32	Būsena	Adding Magnetic Beads [x] of 23 min left
33	Būsena	DNR binding to Magnetic Beads Magnetic separation [x] of 23 min left

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

8 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced pranešimo tekstas (V1.0 protokolas)
34	Būsena	Wash 1 Magnetic separation [x] of 23 min left
35	Būsena	Wash 2 Magnetic separation [x] of 23 min left
36	Būsena	Wash 3 Magnetic separation [x] of 23 min left
37	Būsena	Wash 4 Magnetic separation [x] of 23 min left
38	Būsena	Rinse [x] of 23 min left
39	Būsena	Checking Temperature Set: Cur:
40	Būsena	Elution [x] of 23 min left
41	Pamokymas	Protocol finished
42	Duomenų atsekimas	Transfer Report file, attempt no.
43	Pamokymas	Report file sent Next=ENT
44	Pamokymas	Report file could not be sent Resend=ENT

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

8 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	EZ1 Advanced pranešimo tekstas (V1.0 protokolas)
45	Pamokymas	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No
46	Pamokymas	UV DECONTAMINATION Set time min Key:0-9, ENT
47	Pamokymas	UV lamp expires soon UV runs left ENT= continue
48	Pamokymas	UV lamp is expired ENT=continue ESC=abort
49	Pamokymas	UV DECONTAMINATION Time must be between 20-60 min Key:ESC
50	Pamokymas	UV DECONTAMINATION Total Time: min Time left: min
51	Pamokymas	Decontamination UV lamp cooling Please stand by
52	Pamokymas	Perform regular maintenance before next run! ESC=Main menu

9 lentelė. BioRobot EZ1 DSP DNA Blood protokolo pranešimai

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	BioRobot EZ1 DSP pranešimo tekstas
Nėra	Pamokymas	Choose button: START: Protocols 1 : Tools 2 : Tests
1	Pamokymas	EZ1 DSP DNA Blood Version 1.0.0
2	Pamokymas	The protocol uses Sample Volume: [SampleVolume]ul Elution Volume: [ElutionVolume]ul Next=Any
3	Pamokymas	Load sufficient cartridges (RCB) for samples Next=Any, Prev=ESC
4	Pamokymas	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row Next=Any, Prev=ESC
5	Pamokymas	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=ESC
6	Pamokymas	Leave third row Empty Next=Any, Prev=ESC
7	Pamokymas	Load 2.0ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev=ESC
8	Pamokymas	Start protocol Press START Prev=ESC
9	Būsena	Protocol started
10	Būsena	Piercing Foil
11	Būsena	Collecting Elution Buffer
12	Būsena	Deliver at Heat Block
13	Būsena	Collecting Magnetic Beads
14	Būsena	Resuspension of Magnetic Beads

Lentelės tęsinys kitame puslapyje.

9 lentelė. Tęsinys

Pranešimo numeris	Pranešimo tipas	BioRobot EZ1 DSP pranešimo tekstas
15	Būsena	Adding Lysis Buffer
16	Būsena	Mixing Lysate
17	Būsena	Adding Magnetic Beads
18	Būsena	DNR binding to Magnetic Beads Magnetic Separation
19	Būsena	Wash 1 Magnetic Separation
20	Būsena	Wash 2 Magnetic Separation
21	Būsena	Wash 3 Magnetic Separation
22	Būsena	Wash 4 Magnetic Separation
23	Būsena	Rinse
24	Būsena	Checking Temperature Set: 65 [deg] Cur: [deg]
25	Būsena	Elution
26	Pamokymas	Protocol finished! Press ESC to return to menu

B priedas: DNR laikymas, kiekio apskaičiavimas ir grynumo nustatymas

DNR laikymas

Išgrynintas DNR galima laikyti 2–8°C arba –20°C iki 24 mėn. Jeigu norite ilgiau archyvuoti, išplovus reikia laikyti –70°C.

DNR kiekio apskaičiavimas

DNR koncentraciją reikia nustatyti išmatuojant absorbciją su spektrofotometru esant 260 nm (A_{260}). Tam, kad absorbcijos rodmenys esant 260 nm būtų tikslūs, jie turi būti nuo 0.1 iki 1.0. 1 vieneto absorbcija esant 260 nm atitinka 50 µg DNR mililitre ($A_{260}=1 \rightarrow 50 \mu\text{g/ml}$). Norėdami atskiesti mėginius ir kalibruoti spektrofotometrą, naudokite neutralaus pH buferį (pvz., 10 mM Tris-Cl, * pH 7.0).[†] Magnetinių dalelių likučiai išplovose gali įtakoti A_{260} rodmenį, bet neturėtų įtakoti DNR veikimo pasroviniuose pritaikymuose. Jeigu išgrynintas DNR reikia analizuoti atliekant fluorescencinę kapiliarinę seką, mėgintuvėlį su išplovomis pirmiausia reikia apdoroti su tinkamu magnetiniu separatoriumi, o išplovus perkelti į švarų mėgintuvėlį (žr. žemiau).

Norėdami apskaičiuoti izoliuotų DNR kiekį su EZ1 sistema:

- 1 min. apdorokite mėgintuvėlį, kuriame yra DNR, su tinkamu magnetiniu separatoriumi (pvz., QIAGEN 12 mėgintuvėlių magnetu, katalogo nr. 36912). Jeigu neturite tinkamo magnetinio separatoriaus, 1 min. centrifuguokite mėgintuvėlį su DNR centrifugoje visu greičiu, kad likusios magnetinės dalelės suformuotų gumulėlius.
- Pasibaigus atskyrimui, atsargiai ištraukite 10–50 µl izoliuotų DNR ir atskieskite iki galutinio 100 µl kiekio neutralaus pH buferyje.
- Išmatuokite absorbciją esant 320 nm ir 260 nm. Atimkite su 320 nm gautą absorbcijos rodmenį iš absorbcijos rodmens, gauto esant 260 nm, kad patikslintumėte magnetinių dalelių buvimą.

DNR mėginio koncentracija = $50 \mu\text{g/ml} \times (A_{260} - A_{320}) \times \text{skiedimo faktorius}$

Visas izoliuotų DNR kiekis = koncentracija x mėginio kiekis mililitrais.

DNR grynumas

Grynumas yra nustatomas apskaičiuojant pakoreguoto absorbcijos esant 260 nm santykį su pakoreguotu absorbcijos esant 280 nm, t.y., $(A_{260} - A_{320}) / (A_{280} - A_{320})$. Grynų DNR $A_{260} - A_{280}$ santykis yra 1.7–1.9. Norėdami atskiesti mėginius ir kalibruoti spektrofotometrą, naudokite truputį šarminio pH buferį

* Dirbdami su chemikalais, visada dėvėkite atitinkamą laboratorinį chalata, vienkartinę pirštines ir apsauginius akinius. Daugiau informacijos yra atitinkamuose Safety Data Sheets (saugos duomenų lapuose) (SDS), kuriuos gali pateikti produkto tiekėjas.

[†] Jeigu mėginiai nėra atskiesti, spektrofotometro kalibravimui naudokite vandenį.

(pvz., 10 mM Tris·Cl, pH 7.5).* Jeigu mėginiai nėra atskiesti, spektrofotometro kalibravimui naudokite vandenį.

* Dirbdami su chemikalais, visada dėvėkite atitinkamą laboratorinį chalata, vienkartinės pirštines ir apsauginius akinius. Daugiau informacijos yra atitinkamuose Safety Data Sheets (saugos duomenų lapuose) (SDS), kuriuos gali pateikti produkto tiekėjas.

C priedas: Mėginių lapas, skirtas naudoti su EZ1 DSP DNA Blood sistema

Šis mėginių lapo šablonas gali būti naudingas vedant užrašus, kai atliekama EZ1 DSP DNA Blood procedūra. Galima padaryti šio lapo fotokopiją ir pažymėti ant jos mėginių aprašymus bei procedūros detales.

EZ1 DSP DNA Blood sistema

Data/laikas: _____ Rinkinio partijos nr.: _____

Operatorius: _____ Procedūros ID: _____

Instrumento serijos nr.: _____

Padėtis darbastalyje	Mėginio ID	Mėginio medžiaga	Ar yra RCB?	Ar yra ST?	Ar yra ET?	Ar yra DTH su DFT?
1 (kairė)						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14 (dešinė)						

D priedas: EZ1 Advanced ataskaitos failo pavyzdys

Šiame priede pateiktas tipiško EZ1 Advanced generuoto ataskaitos failo pavyzdys. Kiekvieno parametro vertės skirsis nuo jūsų EZ1 Advanced generuoto ataskaitos failo. Su EZ1 Advanced XL generuotų ataskaitos failų informacija bus tokia pati, skirsis tik kanalų numeris.

Report File EZ1 Advanced:

Serial No. EZ1 Advanced:,"6987"

User ID:,"555"

Firmware version:,"V 1.0.0"

Installation date of instrument:,"Oct 05, 2007"

Weekly maintenance done on:,"Jly 29, 2009"

Yearly maintenance done on:,"Mar 24, 2009"

Date of last UV-run:,"Mar 31, 2009"

Start of last UV-run:,"10:59"

End of last UV-run:,"10:59"

Būsena of last UV-run:,"o.k."

Protocol name:,"DSP DNA Blood Version 2.0"
,"DSP DNA Blood 350"

Date of run:,"Aug 05, 2009"

Start of run:,"07:58"

End of run:,"08:28"

Būsena run:,"o.k"

Error Code:,"---"

Sample input Volume [ul]:," 350"

Elution volume [ul]:," 200"

Channel A:

Sample ID:,"1"

Reagent Kit number:,"9900801"

Reagent Lot number:,"0133203571"

Reagent Expiry date:,"1209"

Assay Kit ID:,"1"

Note:,"1"

Channel B:

Sample ID:,"2"

Reagent Kit number:,"9900801"

Reagent Lot number:,"0133203571"

Reagent Expiry date:,"1209"

Assay Kit ID:,"2"

Note:,"2"

Channel C:

Sample ID:,"3"

Reagent Kit number:,"9900801"

Reagent Lot number:,"0133203571"

Reagent Expiry date:,"1209"

Assay Kit ID:,"3"

Note:,"3"

Channel D:

Sample ID:,"4"

Reagent Kit number:,"9900801"

Reagent Lot number:,"0133203571"

Reagent Expiry date:,"1209"
Assay Kit ID:,"4"
Note:,"4"

Channel E:
Sample ID:,"5"
Reagent Kit number:,"9900801"
Reagent Lot number:,"0133203571"
Reagent Expiry date:,"1209"
Assay Kit ID:,"5"
Note:,"5"

Channel F:
Sample ID:,"6"
Reagent Kit number:,"9900801"
Reagent Lot number:,"0133203571"
Reagent Expiry date:,"1209"
Assay Kit ID:,"6"
Note:,"6"

[Checksum A0C47444]

Užsakymo informacija

Produktas	Turinys	Katalogo nr.
EZ1 DSP DNA Blood Kit (48)	Skirtas 48 DNR ruošiniams: iš anksto pripildytos reagentų kasetės, vienkartinių antgalių laikikliai, vienkartiniai filtrų antgaliai, mėginių mėgintuvėliai, išplovimo mėgintuvėliai	62124
EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card	Iš anksto užprogramuota kortelė, skirta EZ1 DSP DNA Blood protokolui; naudotina su EZ1 Advanced XL instrumentu	9018702
EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card	Iš anksto užprogramuota kortelė, skirta EZ1 DSP DNA Blood protokolui; naudotina su EZ1 Advanced instrumentu	9018305
EZ1 DSP DNA Blood Card	Iš anksto užprogramuota kortelė, skirta EZ1 DSP DNA Blood protokolui; naudotina su BioRobot EZ1 DSP instrumentu	9017713
EZ1 Advanced XL	Automatinis instrumentas, skirtas automatizuotam nukleino rūgščių iš iki 14 mėginių išgryninimui naudojant EZ1 rinkinius, 1 metų garantija dalims ir darbui*	9001492

Norėdami daugiau sužinoti apie QIAGEN bandymų technologijas, apsilankykite www.qiagen.com/products/assays!

Norėdami sužinoti naujausią licencijos išdavimo informaciją ir su produktu susijusius atsisakymus, perskaitykite atitinkamą QIAGEN rinkinio vadovą arba vartotojo vadovą. QIAGEN rinkinio vadovus ir vartotojo vadovus rasite www.qiagen.com arba galite užsisakyti iš QIAGEN techninės pagalbos ar savo vietinio platintojo.

Šis puslapis specialiai paliktas tuščias

Šis puslapis specialiai paliktas tuščias

Prekės ženklai: QIAGEN®, *artus*®, BioRobot®, EZ1®, QuantiTect® (QIAGEN Group); BD Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); LightCycler® (Roche Group); Monovette® (Sarstedt AG & Co.); Vacuette® (C.A. Greiner & Söhne GmbH).

Ribotos licencijos sutartis

Šio produkto naudojimas reiškia tai, kad bet koks EZ1 DSP DNA Blood rinkinio pirkėjas arba vartotojas sutinka su šiomis sąlygomis:

1. EZ1 DSP DNA Blood rinkinį galima naudoti tik pagal *EZ1 DSP DNA Blood rinkinio vadovą* ir tik su jį rinkinį įeinančiais komponentais. Remdamiesi savo intelektualine nuosavybe, QIAGEN neleidžia naudoti arba įdiegti į šį rinkinį įeinančių komponentų su kitais jį rinkinį neįeinančiais komponentais, išskyrus taip, kaip parašyta *EZ1 DSP DNA Blood rinkinio vadove* ir papildomuose protokoluose, kuriuos rasite www.qiagen.com.
2. QIAGEN nesuteikia jokios kitos garantijos, išskyrus aiškiai suformuluotas licencijas, kad šis rinkinys ir/jo naudojimas nepažeis trečiųjų šalių teisių.
3. Šiam rinkiniui ir jo komponentams suteikiama vienkartinio naudojimo licencija ir jų negalima pakartotinai naudoti, atnaujinti arba perparduoti.
4. QIAGEN specifiskai atsisako visų kitų išreikštų ar turimų omenyje licencijų, išskyrus aiškiai suformuluotas.
5. Rinkinio pirkėjas ir vartotojas sutinka patys neatlikti ir neleisti kitiems atlikti tokių veiksmų, dėl kurių galėtų būti atlikti aukščiau draudžiami veiksmai ar palengvintas jų atlikimas. Pažeidus šiuos ribotos licencijos sutarties draudimus, QIAGEN gali kreiptis į teismą ir atgauti visas tyrimo bei teismo išlaidas, įskaitant užmokestį advokatams ir atliekant bet kokį veiksmą, susijusį su šia ribotos licencijos sutartimi ar bet kokiomis jos intelektualinės nuosavybės teisėmis, susijusiomis su rinkiniu ir/ar jo komponentais.

Atnaujintas licencijos sąlygas rasite www.qiagen.com.

QuantiTect Probe PCR rinkinys: ĮSPĖJIMAS PIRKĖJUI: RIBOTA LICENCIJA

Leidimas atlikti 5' nukleazės procesą tyrimo tikslais susijęs su licencijuoto 5' Nuclease rinkinio (su licencijuotu tyrimu) arba autorizuoto 5' Nuclease Core rinkinio ir licencijuoto tyrimo kombinacijos naudojimu arba licencijos teisėmis, kurias galima gauti iš Applied Biosystems. Šis produktas yra autorizuotas 5' Nuclease Core rinkinys be licencijos tyrimo. Į jo pirkimo kainą įeina ribota, neperduodama neliečiamybė ryšium su bylomis pagal JAV patentus nr. 5,210,015, 5,487,972, 5,476,774 ir 5,219,727 bei atitinkamus patentų ieškinius už JAV ribų, kurie yra Roche Molecular Systems, Inc. ar F. Hoffmann-La Roche Ltd (Roche) nuosavybė, praktikoje naudojant tik tokį kiekį 5' nukleazės proceso produkto, kuris reikalingas pirkėjo vidaus tyrimams naudojant su licencijos tyrimu. Šis produktas taip pat yra autorizuotas 5' Nuclease Core rinkinys, skirtas naudoti su pagalbinėmis paslaugų licencijomis, kurias gausite iš Applied Biosystems. Šis produktas neperduoda teisių pagal JAV patentus nr. 5,804,375, 6,214,979, 5,538,848, 5,723,591, 5,876,930, 6,030,787 ar 6,258,569 arba atitinkamus patentus už JAV ribų išreikštai, turint omenyje arba pagal pareiškimo atmetimą. Čia išreikštai, turint omenyje arba pagal pareiškimo atmetimą nesuteikiama teisė pagal kitus patento ieškinius (pvz., aparato ar sistemos ieškinius JAV patente nr. 6,814,934) ir teisė teikti bet kokios rūšies komercines paslaugas, įskaitant pirkėjo veiklos rezultatų pranešimą be apribojimų už užmokestį arba su kitais komerciniais tikslais. Šis produktas yra skirtas naudoti tik tyrimams. Siekiant diagnostinio naudojimo, reikalinga atskira licencija iš Roche. Tolesnę informaciją apie licencijų įsigijimą gausite susisiekę su Licencijų išdavimo vadovu, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA.

HB-0252-003 © 2009-2015 QIAGEN, visos teisės saugomos.

www.qiagen.com

Australia ■ Orders 03-9840-9800 ■ Fax 03-9840-9888 ■ Technical 1-800-243-066

Austria ■ Orders 0800/28-10-10 ■ Fax 0800/28-10-19 ■ Technical 0800/28-10-11

Belgium ■ Orders 0800-79612 ■ Fax 0800-79611 ■ Technical 0800-79556

Brazil ■ Orders 0800-557779 ■ Fax 55-11-5079-4001 ■ Technical 0800-557779

Canada ■ Orders 800-572-9613 ■ Fax 800-713-5951 ■ Technical 800-DNR-PREP (800-362-7737)

China ■ Orders 021-3865-3865 ■ Fax 021-3865-3965 ■ Technical 800-988-0325

Denmark ■ Orders 80-885945 ■ Fax 80-885944 ■ Technical 80-885942

Finland ■ Orders 0800-914416 ■ Fax 0800-914415 ■ Technical 0800-914413

France ■ Orders 01-60-920-926 ■ Fax 01-60-920-925 ■ Technical 01-60-920-930 ■ Offers 01-60-920-928

Germany ■ Orders 02103-29-12000 ■ Fax 02103-29-22000 ■ Technical 02103-29-12400

Hong Kong ■ Orders 800 933 965 ■ Fax 800 930 439 ■ Technical 800 930 425

Ireland ■ Orders 1800 555 049 ■ Fax 1800 555 048 ■ Technical 1800 555 061

Italy ■ Orders 02-33430-420 ■ Fax 02-33430-426 ■ Technical 800-787980

Japan ■ Telephone 03-6890-7300 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Technical 03-6890-7300

Korea (South) ■ Orders 1544 7145 ■ Fax 1544 7146 ■ Technical 1544 7145

Luxembourg ■ Orders 8002-2076 ■ Fax 8002-2073 ■ Technical 8002-2067

Mexico ■ Orders 01-800-7742-639 ■ Fax 01-800-1122-330 ■ Technical 01-800-7742-639

The Netherlands ■ Orders 0800-0229592 ■ Fax 0800-0229593 ■ Technical 0800-0229602

Norway ■ Orders 800-18859 ■ Fax 800-18817 ■ Technical 800-18712

Singapore ■ Orders 65-67775366 ■ Fax 65-67785177 ■ Technical 65-67775366

Spain ■ Orders 91-630-7050 ■ Fax 91-630-5145 ■ Technical 91-630-7050

Sweden ■ Orders 020-790282 ■ Fax 020-790582 ■ Technical 020-798328

Switzerland ■ Orders 055-254-22-11 ■ Fax 055-254-22-13 ■ Technical 055-254-22-12

UK ■ Orders 01293-422-911 ■ Fax 01293-422-922 ■ Technical 01293-422-999

USA ■ Orders 800-426-8157 ■ Fax 800-718-2056 ■ Technical 800-DNR-PREP (800-362-7737)

