

BRUGSANVISNING

chemagic™ BBS DNA Kit H24

Produktnummer: IVD-1074

Reagenser til 240 ekstraktioner.

UDI-DI: 4260543364175

Version: V240503 DA

Producent: Revvity chemagen Technologie GmbH
Arnold-Sommerfeld-Ring 2
52499 Baesweiler, Tyskland
www.revvity.com

CE

TIL IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUG.

1. INDHOLDSFORTEGNELSE










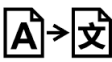



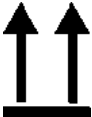
1.	Indholdsfortegnelse	1
2.	Forklaring på signalord i denne brugsanvisning	3
3.	Symboler anvendt i brugsanvisningen og på etiketter	3
4.	Tiltænkt formål	5
5.	Oversigt og princip	5
6.	Rapportering af hændelser	6
7.	Generelle oplysninger og oplysninger om opbevaring	7
8.	Elektronisk brugsanvisning	8
9.	Advarsler og forholdsregler	8
10.	Oplysninger om kittets reagenser og sikkerhed	10
10.1	Magnetic Beads	10
10.2	Lysis Buffer 1	10
10.3	Binding Buffer 2	11
10.4	Wash Buffer 3	12
10.5	Wash Buffer 4	13
10.6	Wash Buffer 5	14
10.7	Wash Buffer 6	14
10.8	Elution Buffer 7	15
10.9	Proteinase K	15
10.10	Yderligere komponenter i kittet	16
11.	Påkrævede protokolfiler	17
12.	Nødvendige materialer, som ikke leveres med kittet	18
12.1	Artikler fra Revvity chemagen Technologie GmbH	18
12.2	Yderligere nødvendige artikler	18
12.3	Yderligere valgfrie artikler fra Revvity chemagen Technologie GmbH	18
12.4	Andre yderligere valgfrie artikler	18
13.	Prøvetagning og -håndtering	19
14.	Forberedelse af buffy coat-prøver	20
15.	Detaljeret beskrivelse af protokol	21
15.1	Protokolprocedure	21
15.2	Behandlingstrin	22
15.3	Kort beskrivelse/hurtigvejledning	25
16.	Egenskaber for performance	28
16.1	Linearitet og gendannelse med beriget DNA-prøve	28
16.2	DNA-udbytter med blod- og buffy coat-prøver	29
17.	Rengøring og vedligeholdelse	30






18. Downstream-applikationer	31
19. Yderligere spørgsmål.....	32
20. Procedurens begrænsninger	32
21. Påvirkning fra interfererende stoffer.....	32
22. Garanti.....	33

2. FORKLARING PÅ SIGNALORD I DENNE BRUGSANVISNING

Signalord	Beskrivelse
FORSIGTIG!	Potentiel fare, der kan medføre let eller mellemstor skade.
OBS!	Forkert håndtering kan beskadige instrumentet.
BEMÆRK:	Fejl begået af brugeren kan medføre, at kittets optimale ydeevne ikke kan garanteres.

3. SYMBOLER ANVENDT I BRUGSANVISNINGEN OG PÅ ETIKETTER

Symbol	Symboltitel	Symbol	Symboltitel
	CE-mærke EU-overensstemmelse		Temperaturgrænse
	Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik		Indeholder tilstrækkeligt til <n> test
	Se brugsanvisningen eller den elektroniske brugsanvisning		Mængde
	Producent		Må ikke genbruges
	Batchkode		Oversættelse
	Katalognummer		Udløbsdato
	Må ikke anvendes, hvis emballagen er beskadiget, og se		Denne side op

Symbol	Symboltitel	Symbol	Symboltitel
	GHS02		Farligt gods: Brandfarlig væske i klasse 3
	GHS07		Farligt gods: Ætsende stoffer i klasse 8
	GHS08	-	-

chemagic™ er et varemærke tilhørende Revvity chemagen Technologie GmbH.

4. TILTÆNKET FORMÅL

chemagic™ BBS DNA Kit H24 (IVD-1074) er et kit til automatiseret isolering og oprensning af DNA fra humant blod, buffy coats (blod med reduceret mængde plasma) og stabiliseret spyt til *in vitro* diagnostiske formål.

Andre prøvematerialer som f.eks. lysater fra podeprøver eller væv kan være kompatible men er endnu ikke blevet valideret. For sådanne materialer skal brugeren udføre en validering.

Produktet bruges på chemagic™ 360-D instrumentet og er beregnet til laboratoriepersonale, der er uddannet til chemagic 360-D instrumentet i kombination med chemagic nukleinsyreoprensningssæt. Kittet er udviklet til at blive brugt med IVD downstream applikationer, der omfatter enzymatisk amplifikation og detektion af DNA (f.eks. PCR, RT-PCR, NGS).

Se afsnittene "OPLYSNINGER OM KITTETS REAGENSER OG sikkerhed" og "ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER" i dette dokument for yderligere oplysninger.

5. OVERSIGT OG PRINCIP

chemagic BBS DNA Kit H24 er baseret på en platform af magnetisk perleteknologi tilhørende Revvity chemagen Technologie GmbH. Hvide blodlegemer eller andre kilder til DNA i blodet, buffy coat og spyt lyseres i ekstraktionsprocessen. De frigivne nukleinsyrer binder til små magnetiserbare partikler, som derefter udskilles magnetisk fra prøvematerialet. Under de efterfølgende trin fjernes kontaminanter, og de oprensede nukleinsyrer overføres til en elueringsbuffer. Den automatiserede prøvebehandling udføres ved hjælp af chemagic 360-D-instrumentet med chemagic 24 Rod Head Set eller et tilsvarende instrument.

For at minimere uregelmæssigheder i diagnostiske resultater er produktet beregnet til at blive brugt med passende kontroller gennem hele processen med prøveforberedelse, prøveamplifikation og detektion i henhold til den anvendte downstream-analyse.

6. RAPPORTERING AF HÆNDELSER

For brugere/tredjeparter i EU og i lande med enslydende lovgivning (IVDR (EU) 2017/746): Hvis der forekommer en alvorlig hændelse i forbindelse med eller som følge af brugen af denne enhed, skal det indberettes til den nationale myndighed og til producenten Revvity chemagen Technologie GmbH, +49 (0) 2401805500 eller support.chemagen@revvity.com eller dennes juridiske repræsentanter.

Den kompetente myndighed i Tyskland er Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (Forbundsinstitut for lægemidler og medicinsk udstyr), BfArM. Kontaktoplysninger findes på BfArM website: <https://www.bfarm.de>.

7. GENERELLE OPLYSNINGER OG OPLYSNINGER OM OPBEVARING

Kittet indeholder reagenser nok til at udføre 240 ekstraktioner.

Udløbsdatoen for det uåbnede kit er angivet på den udvendige etiket. Ingen af komponenterne må anvendes efter udløbsdatoen. Opbevares ved +2 til +25 °C.

Når kittets komponenter er åbnet, har de en begrænset holdbarhed. Holdbarheden efter åbning er angivet separat for hver komponent på nedenstående liste over reagenser (afsnittet "OPLYSNINGER OM KITTETS REAGENSER OG sikkerhed").

BEMÆRK: Sæt lågene godt fast på flaskerne igen umiddelbart efter brug for at forhindre fordampning.

Flaskerne kan blive misfarvede under opbevaring. Misfarvningen af flaskerne har ingen indvirkning på analysens funktion.

I nogle tilfælde kan der være spor efter Magnetic Beads i eluatet. Selvom sådanne partikler som regel ikke interfererer med PCR eller de fleste downstream-applikationer, anbefales det at anvende et yderligere separationstrin enten ved hjælp af centrifugering eller en magnetisk separator (chemagic Stand 12, der følger med chemagic 360 24 Rod Head Set) for at adskille eventuelle spor af partikler.

Ekstraheret DNA skal bruges umiddelbart efter ekstraktion i den ønskede *in vitro*-diagnostiske test.

I denne brugsanvisning henviser vi til brugervejledningen til chemagic 360-D. Denne vejledning følger med chemagic 360-D-instrumentet.

Kit-relaterede protokolfiler er tilgængelige på hjemmesiden eller fås ved henvendelse til kundesupport (se afsnittet "PÅKRÆVEDE PROTOKOLFILER").

8. ELEKTRONISK BRUGSANVISNING

Der findes en elektronisk brugsanvisning (eIFU) på forskellige sprog på vores hjemmeside.

For at downloade denne elektroniske brugsanvisning kan du gå til

<https://chemagen.com/products/ce-ivd-chemagic-kits/ivd-1074-chemagic-bbs-dna-kit-h24/>.

Den elektroniske brugsanvisning (eIFU'en) findes som minimum på engelsk (EN), fransk (FR), spansk (ES) og italiensk (IT) og ved anmodning også på andre påkrævede sprog.

Hvis du har spørgsmål vedrørende den downloadede eller elektroniske brugsanvisning, kan du kontakte os på:

support.chemagen@revvity.com, info.chemagen@revvity.com eller +49 (0) 2401805500.

9. ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

Til *in vitro*-diagnostisk brug.

Produktet er beregnet til laboratoriepersonale, der er uddannet til chemagic 360-D-instrumentet i kombination med chemagic-nukleinsyreoprensningssæt.

En grundig forståelse af denne brugsanvisning og brugervejledningen til chemagic 360-D er en forudsætning for at kunne anvende chemagic BBS DNA Kit H24 korrekt.

De reagenser, der følger med dette kit, er beregnet til brug som en integreret del. Identiske reagenser fra kits med forskellige lotnumre må ikke blandes.

Brug ikke kittets reagenser efter den udløbsdato, der er trykt på etiketten. Når reagenserne er åbnet, kan de bruges i den periode, der er angivet på listen over reagenser i denne brugsanvisning.

Enhver afvigelse fra protokollen kan påvirke resultaterne.

Reagenserne dispenseres automatisk i hele rækker, og derfor skal chemagic Tips XL og chemagic Elution Tubes 13 mL også anvendes i hele rækker på hver stang, der er i kontakt med en reagensopløsning.

Bemærk også, at opløsningerne muligvis ikke er tilstrækkelige til 240 ekstraktioner, hvis pladerne ikke fyldes helt.

Kontrollér, at alle komponenterne i kittet er ubeskadigede. I tilfælde af skader kontaktes leverandøren.

Håndter alle prøver som potentielt infektiøse. Potentielt infektiøse prøver skal deaktiveres. Se det amerikanske Department of Health and Human Services' publikation "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" eller en anden tilsvarende lokal eller national bestemmelse.

Lysis Buffer 1 indeholder guanidiniumchlorid og er skadelig ved indtagelse, hudkontakt eller indånding. Binding Buffer 2, Wash Buffer 3 og Wash Buffer 4 indeholder natriumperchlorat og ethanol og er brandfarlige væsker og dampe, som er skadelige ved indtagelse. Wash Buffer 5 indeholder ethanol og er en brandfarlig væske og damp. Proteinase K indeholder proteinase fra tritirachium album-serin og forårsager hudirritation og alvorlig øjenirritation. Det kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær eller irritation af luftvejene ved indånding. Se de specifikke forholdsregler for alle komponenter i afsnittet "OPLYSNINGER OM KITTETS REAGENSER OG sikkerhed".

Brug altid sikkerhedsbriller, engangshandsker og beskyttelsestøj for at undgå skader ved arbejdet med kittets komponenter. Se de tilsvarende sikkerhedsdatablade (SDS) for detaljerede oplysninger, der er tilgængelige på vores hjemmeside.

Følg de lokale bestemmelser vedrørende håndtering af ethanolholdige opløsninger.

Bortskaffelse af alle former for affald skal ske i henhold til de lokale bestemmelser.

10. OPLYSNINGER OM KITTETS REAGENSER OG SIKKERHED


chemagic BBS DNA Kit H24 indeholder følgende reagenser.

10.1 MAGNETIC BEADS

Komponent	Mængde	Holdbarhed og opbevaring
Magnetic Beads	1 flaske (se volumen på etiket)	+2 til +25 °C indtil den udløbsdato, der er angivet på flaskens etiket. Efter åbning er den holdbar i 60 dage ved +2 til +25 °C.

Suspension af partikler indeholdende nanopartikulær jernoxid indkapslet i en matrix af polyvinylalkohol. Magnetic Beads binder DNA'et/RNA'et under ekstraktionsprocessen.

10.2 LYSIS BUFFER 1

Komponent	Mængde	Holdbarhed og opbevaring
Lysis Buffer 1  ADVARSEL	1 beholder (se volumen på etiket)	+2 til +25 °C indtil den udløbsdato, der er angivet på beholderens etiket. Efter åbning er den holdbar i 60 dage ved +2 til +25 °C.

Brugsklar vandig bufferopløsning (pH 6,7-7,2), der indeholder guanidiniumchlorid (30-50 %) og isotridecyl-alkohol (1-1,5 %). Lysis Buffer 1 anvendes til at lysere de celler eller andre DNA-kilder, der er til stede i prøven, for at frigøre DNA'et i opløsning.

FORSIGTIG! Lysis Buffer 1 indeholder guanidiniumchlorid og isotridecyl-alkohol.


Fare- og sikkerhedssætninger samt EUH-sætninger

H302	Farlig ved indtagelse.
H315	Forårsager hudirritation.
H319	Forårsager alvorlig øjenirritation.

Fare- og sikkerhedssætninger samt EUH-sætninger

P280	Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjebeskyttelse/ansigtsbeskyttelse/høreværn.
P301+P312	I TILFÆLDE AF INDTAGELSE: Ring til GIFTLINJEN/læge i tilfælde af ubehag. P330 Skyl munden.
P330	Skyl munden.
P305+P351+P338	VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.
P332+P313	Ved hudirritation: Søg lægehjælp.
P501	Bortskaf indhold/beholder i overensstemmelse med lokale/regionale/nationale/internationale bestemmelser.

10.3 BINDING BUFFER 2

Komponent	Mængde	Holdbarhed og opbevaring
Binding Buffer 2  FARE	2 beholdere (se volumen på etiket)	+2 til +25 °C indtil den udløbsdato, der er angivet på beholderens etiket. Efter åbning er den holdbar i 60 dage ved +2 til +25 °C.

Brugsklar Tris-HCl-bufferopløsning (pH 5,2-5,9) med natriumperchlorat (20-30 %), ethanol (30-50 %) og eddikesyre (0,75-1,5 %). Binding Buffer 2 anvendes til at skabe de rette forbindelser for at få DNA'et til at binde til Magnetic Beads.

FORSIGTIG! Binding Buffer 2 indeholder ethanol og natriumperchlorat.


Fare- og sikkerhedssætninger samt EUH-sætninger

H226	Brandfarlig væske og damp.
P210	Holdes væk fra varme, varme overflader, gnister, åben ild og andre antændelseskilder. Rygning forbudt.
P240	Beholder og modtageudstyr jordforbindes/potentialudlignes.
P241	Anvend eksplosionssikkert [elektrisk/ventilations-/lys-] udstyr.

Fare- og sikkerhedssætninger samt EUH-sætninger

P280	Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjebeskyttelse/ansigtsbeskyttelse/høreværn.
P303+P361+P353	VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Tilsmudset tøj tages straks af/fjernes. Skyl [eller brus] huden med vand.
P501	Bortskaf indhold/beholder i overensstemmelse med lokale/regionale/nationale/internationale bestemmelser.

10.4 WASH BUFFER 3

Komponent	Mængde	Holdbarhed og opbevaring
Wash Buffer 3 	1 beholder (se volumen på etiket)	+2 til +25 °C indtil den udløbsdato, der er angivet på beholderens etiket. Efter åbning er den holdbar i 60 dage ved +2 til +25 °C.
FARE		


Brugsklar Tris-HCl-bufferopløsning (pH 5,0-5,6) med natriumperchlorat (10-20 %) og ethanol (10-30 %). Bruges til at fjerne kontaminanter, der ikke er DNA, under vaskeprocessen.

FORSIGTIG! Wash Buffer 3 indeholder ethanol og natriumperchlorat.

Fare- og sikkerhedssætninger samt EUH-sætninger

H226	Brandfarlig væske og damp.
P210	Holdes væk fra varme, varme overflader, gnister, åben ild og andre antændelseskilder. Rygning forbudt.
P240	Beholder og modtageudstyr jordforbindes/potentialudlignes.
P241	Anvend eksplosionssikkert [elektrisk/ventilations-/lys-] udstyr.
P280	Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjebeskyttelse/ansigtsbeskyttelse/høreværn.
P303+P361+P353	VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Tilsmudset tøj tages straks af/fjernes. Skyl [eller brus] huden med vand.
P501	Bortskaf indhold/beholder i overensstemmelse med lokale/regionale/nationale/internationale bestemmelser.

10.5 WASH BUFFER 4

Komponent	Mængde	Holdbarhed og opbevaring
Wash Buffer 4  FARE	1 beholder (se volumen på etiket)	+2 til +25 °C indtil den udløbsdato, der er angivet på beholderens etiket. Efter åbning er den holdbar i 60 dage ved +2 til +25 °C.


Brugsklar Tris-HCl-bufferopløsning (pH 5,0-5,6) med natriumperchlorat (10-20 %) og ethanol (10-30 %). Bruges til at fjerne kontaminanter, der ikke er DNA, under vaskeprocessen.

FORSIGTIG! Wash Buffer 4 indeholder ethanol og natriumperchlorat.

Fare- og sikkerhedssætninger samt EUH-sætninger

H226	Brandfarlig væske og damp.
P210	Holdes væk fra varme, varme overflader, gnister, åben ild og andre antændelseskilder. Rygning forbudt.
P240	Beholder og modtageudstyr jordforbindes/potentialudlignes.
P241	Anvend eksplosionssikkert [elektrisk/ventilations-/lys-] udstyr.
P280	Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjebeskyttelse/ansigtsbeskyttelse/hørevern.
P303+P361+P353	VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Tilsmudset tøj tages straks af/fjernes. Skyl [eller brus] huden med vand.
P501	Bortskaf indhold/beholder i overensstemmelse med lokale/regionale/nationale/internationale bestemmelser.

10.6 WASH BUFFER 5

Komponent	Mængde	Holdbarhed og opbevaring
Wash Buffer 5  FARE	1 beholder (se volumen på etiket)	+2 til +25 °C indtil den udløbsdato, der er angivet på beholderens etiket. Efter åbning er den holdbar i 60 dage ved +2 til +25 °C.

Brugsklar opløsning, der indeholder ethanol (50-70 %). Bruges til at fjerne de sidste spor af kontaminanter, der ikke er DNA, under vaskeprocessen.

FORSIGTIG! Wash Buffer 5 indeholder ethanol.

Fare- og sikkerhedssætninger samt EUH-sætninger

H225	Meget brandfarlig væske og damp.
P210	Holdes væk fra varme, varme overflader, gnister, åben ild og andre antændelseskilder. Rygning forbudt.
P240	Beholder og modtageudstyr jordforbindes/potentialudlignes.
P241	Anvend eksplosionssikkert [elektrisk/ventilations-/lys-] udstyr.
P280	Bær beskytteshandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse/høreværn.
P303+P361+P353	VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Tilsmudset tøj tages straks af/fjernes. Skyl [eller brus] huden med vand.
P501	Bortskaf indhold/beholder i overensstemmelse med lokale/regionale/nationale/internationale bestemmelser.

10.7 WASH BUFFER 6

Komponent	Mængde	Holdbarhed og opbevaring
Wash Buffer 6	1 beholder (se volumen på etiket)	+2 til +25 °C indtil den udløbsdato, der er angivet på beholderens etiket. Efter åbning er den holdbar i 60 dage ved +2 til +25 °C.



Brugsklar ultrafiltreret vandopløsning. Bruges til at fjerne eventuelle rester af ethanol.

10.8 ELUTION BUFFER 7

Komponent	Mængde	Holdbarhed og opbevaring
Elution Buffer 7	1 flaske (se volumen på etiket)	+2 til +25 °C indtil den udløbsdato, der er angivet på flaskens etiket. Efter åbning er den holdbar i 60 dage ved +2 til +25 °C.

Brugsklar 10 mM Tris-HCl-bufferopløsning (pH 7,8-8,4).

10.9 PROTEINASE K

Komponent	Mængde	Holdbarhed og opbevaring
Proteinase K   FARE	4 hætteglas (frysetørret)	+2 til +25 °C indtil den udløbsdato, der er angivet på hætteglassets etiket. Efter rekonstitution, holdbar i 28 dage ved +2 til +8 °C.

Proteinase K rekonstitueres ved, at der tilsættes 1,25 mL rensed vand. Proteinase K tilføjes for at gøre lysisstrinnet mere effektivt.

FORSIGTIG! Proteinase K indeholder proteinase, tritirachium album-serin og kalciumacetat-hydrat.

Fare- og sikkerhedssætninger samt EUH-sætninger

H315	Forårsager hudirritation.
H319	Forårsager alvorlig øjenirritation.
H334	Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding.
H335	Kan forårsage irritation af luftvejene.
P261	Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray.
P280	Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

Fare- og sikkerhedssætninger samt EUH-sætninger

P284	[I tilfælde af utilstrækkelig ventilation], anvend åndedrætsværn.
P305+P351+P338	VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.
P405	Opbevares under lås.
P501	Bortskaf indhold/beholder i overensstemmelse med lokale/regionale/nationale/internationale bestemmelser.

10.10 YDERLIGERE KOMPONENTER I KITTET

chemagic BBS DNA Kit H24 indeholder følgende plastikmaterialer.

Komponent	Mængde	Opbevaring
chemagic Tips XL	250	+2 til +25 °C
chemagic Deep Well Plate 24 XL	50	+2 til +25 °C
chemagic Elution Tube 13 mL	288	+2 til +25 °C

11. PÅKRÆVEDE PROTOKOLFILER

De følgende protokolfiler leveres af Revvity chemagen Technologie GmbH og er tilgængelige på hjemmesiden eller bliver leveret af kundesupport.

Protokol (.che-fil)	Protokoltype/-formål
chemagic BBS DNA 360 H24 EB 13ml Tubes prefilling VD191213.che	Kit-relateret ekstraktionsfil til chemagic 360-D-instrumentet
prime manifolds H24 all 360 V150116.che	Fyldning og priming af chemagic 360-D-instrumentets rør med reagenser
check manifolds H24 all 360 V150116.che	Kontrol af pumpernes funktionalitet
regular cleaning procedure 24 dispenser 360 V150116.che	Regelmæssig rengøring af chemagic 360-D-instrumentet (én gang om ugen)
intensive cleaning procedure H24 dispenser 360 V150116.che	Intensiv rengøring af chemagic 360-D-instrumentet (én gang om måned)

12. NØDVENDIGE MATERIALER, SOM IKKE LEVERES MED KITTET

chemagic BBS DNA Kit H24 kræver følgende artikler.

12.1 ARTIKLER FRA REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

Artikel	Produkt nr.
chemagic 360-D instrument	2024-0010
chemagic 24 Rod Head Set	CMG-376
Stativ til chemagic Elution Tubes 13 mL (leveres med chemagic 24 Rod Head Set)	-

12.2 YDERLIGERE NØDVENDIGE ARTIKLER

Artikel	Formål
Pipetter og pipettespidser med aerosolbarrierer	Fyldning af Magnetic Beads, Elution Buffer 7 og Proteinase K
Vand klassificeret til molekylærbiologi	Rekonstitution af Proteinase K
70 % ethanol	Rengøring af chemagic 360-D- instrumentet

12.3 YDERLIGERE VALGFRIE ARTIKLER FRA REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

Produkt	Produkt nr.
chemagic Stand 12 (leveres med chemagic 24 Rod Head Set)	CMG-308
Red Cell Lysis Buffer	CMG-848

12.4 ANDRE YDERLIGERE VALGFRIE ARTIKLER

Produkt	Formål
Isotonisk saltvandsopløsning, steril	Resuspension af buffy coats

13. PRØVETAGNING OG -HÅNDTERING

chemagic BBS DNA Kit H24 bruges til humant blod, buffy coat og spyt i afmålte mængder af 2-4 mL pr. isolering.

Der skal anvendes prøver med humant fuldblod (2-4 mL) eller buffy coat-prøver (op til 4 mL), som typisk er friske, frosne eller har været opbevaret i højst 10 dage ved +2 til +8 °C. For langtidsopbevaring anbefales det at fryse prøverne ved -20 °C eller -80 °C i afmålte mængder. De anbefalede blodstabilisatorer er EDTA eller citrat.

BEMÆRK: Brug af heparinstabiliserede blodprøver kan forårsage hæmning i downstream-applikationer og anbefales derfor ikke.

Antallet af hvide blodlegemer i fuldblodsprøven falder under opbevaring. Længere opbevaring af prøverne kan medføre et dårligt DNA-udbytte efter ekstraktion.

Der skal anvendes humant spyt (4 mL), som er opbevaret i henhold til anvisningerne fra leverandøren af opsamlingsrøret. Det anbefales at anvende stabiliserede opsamlingsrør fra DNAgenotek®, Isohelix™ og Spectrum Solutions. Inkubation af opsamlingsrørene forud for ekstraktionen i > 2 timer ved 50 °C vil medføre højere DNA-udbytter og anbefales derfor.

Der skal anvendes buffy coat-prøver, som er opbevaret i højst en uge ved +2 til +8 °C. For langtidsopbevaring anbefales det at fryse prøverne ved -20 °C eller -80 °C i afmålte mængder. Buffy coats skal udtages fra stabiliserede blodprøverør (følg ovenstående anbefaling for rør til blodprøver). Før ekstraktionen skal buffy coats optøs ved 37 °C. Vi anbefaler at følge proceduren for forberedelse af buffy coats.

14. FORBEREDELSE AF BUFFY COAT-PRØVER

- Tilsæt op til 5 mL friskt fuldblod i et sterilt 50 mL-rør.
- Tilsæt 40 mL Red Cell Lysis Buffer (RCLB) til blodet, og vend røret 4 gange.
- Inkuber i 5 minutter, eller indtil suspensionen bliver gennemsigtig.
- Centrifuger ved 4.000 omdr./min. i 10 minutter for at opsamle de hvide blodlegemer.
- Dekantér supernatanten, og aspirér forsigtigt den resterende supernatant fra toppen af prøven ved hjælp af pipettering.

BEMÆRK: Undgå at forstyrre cellepelletten. Udvis forsigtighed under pipetteringen for at undgå tab af pelletten med hvide blodlegemer.

- Tilsæt 20 mL Red Cell Lysis Buffer, og vask samt fjern forsigtigt resterende røde blodlegemer fra toppen af den hvide pellet uden at forstyrre den hvide pellet.
- Dekantér supernatanten, og aspirér forsigtigt den resterende supernatant fra toppen af prøven ved hjælp af pipettering.
- Resuspender buffy coat'en i op til 2 mL isotonisk saltvandsopløsning (0,9 % NaCl).
- Hvis startvolumen af blod er under eller over 6 mL, skal volumen af den anvendte Red Cell Lysis Buffer ændres proportionalt.
- Buffy coats kan være frosne, opbevaret ved +2 til +8 °C i en uge eller bruges direkte til ekstraktion.

15. DETALJERET BESKRIVELSE AF PROTOKOL

15.1 PROTOKOLPROCEDURE

Den følgende procedure beskriver forberedelsen og udførelsen af ekstraktionsprotokollen ved brug af chemagic 360-D-instrumentet.

Varigheden af den automatiserede ekstraktionsprotokol er ca. 78 minutter.

Protokollen er egnet til at behandle op til 24 prøver parallelt (se "BEHANDLINGSTRIN" nedenfor). For detaljerede anvisninger i brugen af chemagic 360-D-instrumentet henvises der til brugervejledningen til chemagic 360-D.

BEMÆRK: Prøver og reagenser skal bringes til stuetemperatur (+19 til +25 °C) før brug.

Slut reagensflaskerne til chemagic 360-D-instrumentet på følgende måde:

Pumpe	Buffer	Mindste påfyldningsvolumen
Pumpe 1	Lysis Buffer 1	150 mL
Pumpe 2	Binding Buffer 2	350 mL
Pumpe 3	Wash Buffer 3	200 mL
Pumpe 4	Wash Buffer 4	200 mL
Pumpe 5	Wash Buffer 5	200 mL
Pumpe 6	Wash Buffer 6	200 mL

BEMÆRK: Sæt lågene godt fast på flaskerne igen umiddelbart efter brug, eller hold flaskerne tæt tilsluttede til chemagic 360-D-instrumentet. Binding Buffer 2, Wash Buffer 3, Wash Buffer 4 og Wash Buffer 5 indeholder ethanol. Hvis ethanolen fordamper, kan den optimale ydeevne eller detektionsfølsomhed ikke garanteres.

15.2 BEHANDLINGSTRIN

1. Kontrollér, at alle komponenterne i kittet er ubeskadigede. I tilfælde af skader kontaktes leverandøren.
2. Før pladerne og chemagic Elution Tubes 13 mL fyldes i stativet, skal de markeres med materiale i position (prøver, Magnetic Beads og buffere).

Reagenserne dispenseres automatisk i hele rækker, og derfor skal chemagic Elution Tubes 13 mL også anvendes i hele rækker på hver stang, der er i kontakt med en reagensopløsning.

3. Rekonstituer Proteinase K:

Komponent	Rekonstitution
Proteinase K	Tilsæt 1,25 mL vand, der er klassificeret til molekylærbiologi, i Proteinase K-hætteglasset, og bland forsigtigt, indtil det er opløst.

4. Fyld og foretag priming af chemagic 360-D-rørene med reagenser ved at vælge protokollen "**prime manifolds H24 all 360 V150116.che**". Tryk på [Insert IDs], følg de anvisninger, der er angivet i chemagic QA-softwaren, og start primingen ved at trykke på [OK]. Hvis funktioner, der muliggør input af ID-data, er deaktiveret, skal primingen påbegyndes direkte ved at trykke på [Start].

BEMÆRK: Primingen skal udføres, når reagensflasker tilsluttes chemagic 360-D-instrumentet for første gang, eller hvis instrumentets rør ikke allerede er fyldt med ovennævnte reagenser.

5. Hvis priming ikke er nødvendig, skal du vælge protokollen "**check manifolds H24 all 360 V150116.che**" og trykke på [Insert IDs] eller – hvis de pågældende funktioner er deaktiveret – [Start]. En lille volumen af buffer dispenseres af hver pumpe sekventielt med start fra den første pumpe, der bruges til denne applikation. Hvis en af pumperne ikke viser dispensering af buffer gennem alle dyserne, skal du bruge den tilsvarende priming-protokol til denne pumpe. Hvis der udføres flere kørsler om dagen, er det kun nødvendigt at kontrollere pumperne én gang ved arbejdsdagens start.
6. Vælg protokollen "**chemagic BBS DNA 360 H24 EB 13ml prefilling VD191213.che**", og tryk på [Insert IDs], og følg de anvisninger, der er angivet i chemagic QA-softwaren.

7. Sørg for, at der er tilstrækkeligt med chemagic Tips XL, og at de er justeret i forhold til prøvernes positioner, og placer stativet med spidserne i position 1 i det pågældende tracking system. Reagenserne dispenseres automatisk i hele rækker, og derfor skal chemagic Tips XL også anvendes i hele rækker på hver stang, der er i kontakt med en reagensopløsning.
8. Kontrollér volumenerne i beholderne til bufferforsyning, og bekræft ved at trykke på [OK]. Se ovennævnte minimumshøjder for påfyldning under "PROTOKOLPROCEDURE".

BEMÆRK: Sørg for, at alle flasker med bufferforsyning indeholder tilstrækkeligt med buffer. Der kan kun udføres 24 isoleringer, hvis væskenniveauet for alle buffere er tilstrækkeligt.

9. Vælg antallet af prøver til fyldning ved hjælp af rullemenuen. Skemaet til positionering af prøverne vises efter valget. Sørg for at bruge de angivne positioner. Bekræft ved at trykke på [OK].
10. Fyld de valgte brønde i prøvepladen med op til 4 mL prøve. For at sikre prøvernes homogenitet skal prøverne blandes forsigtigt, før de pipetteres i brøndene i prøvepladen.
11. Fyld to elueringsstativer med chemagic Elution Tubes 13 mL.
12. Fyld Elution Buffer 7 og de grundigt resuspenderede Magnetic Beads ved at pipettere manuelt i henhold til hver(t) af de pågældende brønde eller rør i brug.

Komponent	Pladeposition på chemagic 360-D-instrumentet	Volumen/brønd eller rør
Magnetic Beads	4	400 µL
Elution Buffer 7	7	300-500 µL

BEMÆRK: Suspensionen af Magnetic Bead skal blandes grundigt før dispensering. Ellers er suspensionen ikke homogen, og DNA-udbyttet kan være lavt.

13. Tilsæt 15 µL Proteinase K i de brønde, der indeholder prøve.
14. Placer chemagic Deep Well Plates 24 XL og de to stativer med chemagic Elution Tubes 13 mL (det ene stativ med chemagic Elution Tubes 13 mL fyldt med Elution Buffer 7 og det andet stativ med tomme chemagic Elution Tubes 13 mL fil bortskaffelse af chemagic Tips XL) på det pågældende tracking system i henhold til anvisningerne i chemagic QA-softwaren.

15. Placer prøvepladen i position 2 i det pågældende tracking system.
16. Kontrollér alle plader og stativer for korrekt retning og justering.
17. Luk frontdøren, og start processen ved at trykke på [Start].
18. Den automatiserede DNA-ekstraktionsproces påbegyndes.
19. Når isoleringsproceduren er færdig, skal du trykke på knappen [Turn Table] for at tømme det pågældende tracking system. Med hvert klik på [Turn Table] flyttes det pågældende tracking system (table) en position med uret.

OBS! Det pågældende tracking system (table) må aldrig flyttes manuelt. Dette kan beskadige instrumentet. Alle bevægelser skal udføres med funktionen [Turn Table].

BEMÆRK: Hvis døren til chemagic 360-D-instrumentet åbnes, mens den automatiserede ekstraktionskørsel er i gang, bliver kørslen afbrudt, og de prøver, der behandles, kan gå tabt.

For oplysninger om rengøring af instrumentet henvises der til afsnittet "RENGØRING OG VEDLIGEHOLDELSE".

15.3 KORT BESKRIVELSE/HURTIGVEJLEDNING

Automatiseret DNA-ekstraktionskørsel på chemagic 360-D-instrumentet:

- Vælg protokollen "**check manifolds H24 all 360 V150116.che**" for at skylle rørene, før den automatiserede ekstraktionskørsel startes.
- Tryk på [Insert IDs], følg de anvisninger, der er angivet i chemagic QA-softwaren, og start skylningen ved at trykke på [OK].
- Ved brug af de funktioner, der muliggør input af ID-data, skal du vælge protokollen "**chemagic BBS DNA 360 H24 EB 13 ml Tubes prefilling VD191213.che**" og trykke på [Insert IDs]. Følg anvisningerne i chemagic QA-softwaren for at udfylde de nødvendige data.
- Reagenserne dispenseres automatisk i hele rækker, og derfor skal chemagic Tips XL og chemagic Elution Tubes 13 mL også anvendes i hele rækker på hver stang, der er i kontakt med en reagensopløsning.
- Sæt pladerne og stativerne med chemagic Elution Tubes 13 mL i tracking system-positionerne 1-8 på følgende måde.
(Tallene i tracking system angiver placeringen af pladen på chemagic 360-D-instrumentet).

Position i tracking system	Materiale i position	Protokoltrin i detaljer
1	Stativ med chemagic Tips XL	Brug chemagic Tips XL i henhold til prøvernes positioner, og placer stativet. BEMÆRK: Spidserne skal være til stede i stativet i hele rækker.
2	Prøveplade (chemagic Deep Well Plate 24 XL)	Placer pladen med forberedte prøver (op til 4 mL prøve) og 15 µL Proteinase K. Lysis Buffer 1 og Binding Buffer 2 dispenseres automatisk i pladen.
3	chemagic Deep Well Plate 24 XL med 400 µL Magnetic Beads	Pipettér 400 µL grundigt resuspenderede Magnetic Beads i hver brønd i pladen i henhold til prøvepositionerne, og placer pladen. Wash Buffer 3 dispenseres automatisk i pladen.
4	chemagic Deep Well Plate 24 XL	Placer en tom plade. Wash Buffer 4 dispenseres automatisk i pladen.
5	chemagic Deep Well Plate 24 XL	Placer en tom plade. Wash Buffer 5 dispenseres automatisk i pladen.
6	chemagic Deep Well Plate 24 XL	Placer en tom plade. Wash Buffer 6 dispenseres automatisk i pladen.
7	Stativ med chemagic Elution Tubes 13 mL fyldt med 300-500 µL Elution Buffer 7	Pipettér 300-500 µL Elution Buffer 7 i hvert chemagic Elution Tubes 13 mL i henhold til prøvepositionerne, og placer stativet.

Position i tracking system	Materiale i position	Protokoltrin i detaljer
8	Stativ med tomme chemagic Elution Tubes 13 mL	Placer stativet.

- Kontrollér alle plader og stativer for korrekt retning og justering.
- Når alle plader og stativer er på plads, skal du trykke på [OK].
- Luk frontdøren, og start DNA-ekstraktionsprocessen med det samme ved at trykke på [Start]. Herefter blandes prøvelsætet automatisk.
- Hvis de funktioner, der muliggør input af ID-data, er deaktiveret, skal du placere pladerne i tracking system-positionerne 1-8.
- Når alle plader er på plads, skal du vælge protokollen "**chemagic BBS DNA 360 H24 EB 13 ml Tubes prefilling VD191213.che**", markere de kolonner, der er i brug, på pladekortet i dialogboksen og starte ekstraktionskørslen direkte ved at trykke på [Start].
- Når isoleringsproceduren er færdig, skal du trykke på knappen [Turn Table] for at tømme det pågældende tracking system. Med hvert klik på [Turn Table] flyttes det pågældende tracking system (table) en position med uret.

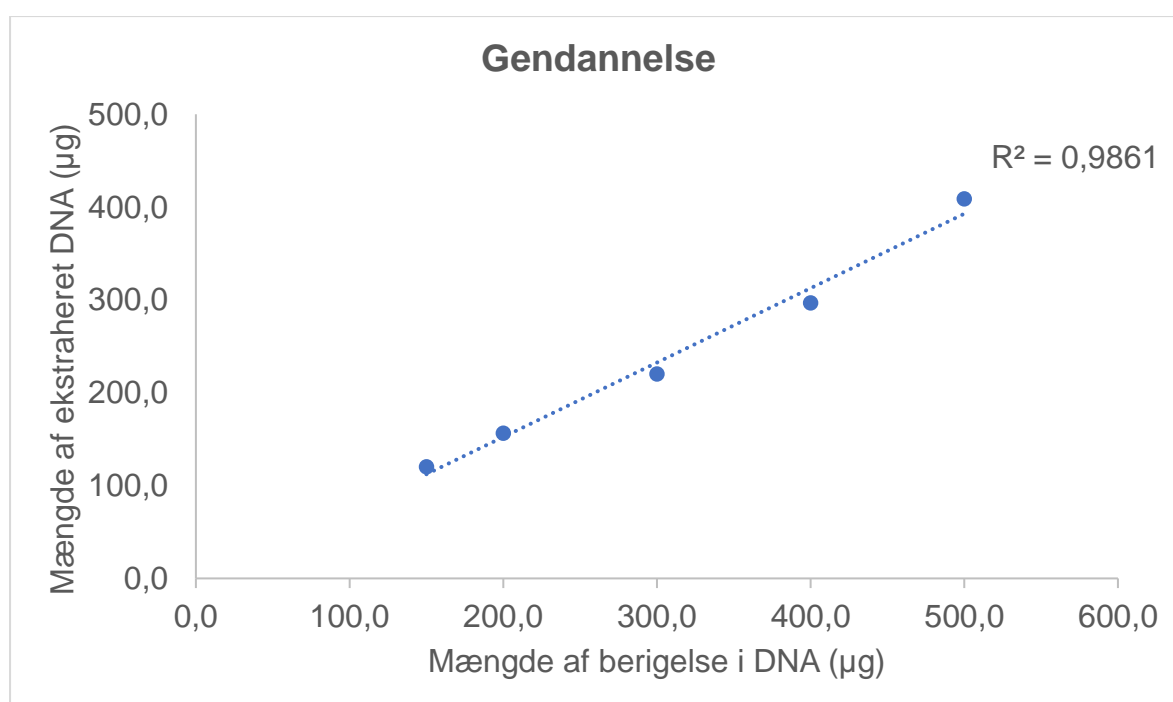
OBS: Det pågældende tracking system (table) må aldrig flyttes manuelt. Dette kan beskadige instrumentet. Alle bevægelser skal udføres med funktionen [Turn Table].

BEMÆRK: Hvis døren til chemagic 360-D-instrumentet åbnes, mens den automatiserede ekstraktionskørsel er i gang, bliver kørslen afbrudt, og de prøver, der behandles, kan gå tabt.

16. EGENSKABER FOR PERFORMANCE

16.1 LINEARITET OG GENDANNELSE MED BERIGET DNA-PRØVE

For at vise lineariteten af ekstraktionen med IVD-1074-kittet blev 0,9 % NaCl-opløsning beriget med fem koncentrationer af humant genomisk DNA: 150 µg, 200 µg, 300 µg, 400 µg og 500 µg. Ekstraktioner blev udført ved hjælp af 4 mL af de forskellige DNA-mængder som prøve med ekstraktionsprotokollen "**chemagic BBS DNA 360 H24 prefilling VD190913.che**". Fire replikater af hver DNA-mængde beriget i 0,9 % NaCl blev ekstraheret.



Figur 1: Ekstraktionsgendannelse af berigelse i DNA-prøver. Ekstraheret med chemagic 360-D ved hjælp af IVD-1074-kittet.

Gendannelsen viser en god linearitet i området 150-500 µg af DNA som prøveinput. Gendannelsen svinger mellem 69,8 og 98,9 % afhængigt af input-mængden af humant genomisk DNA.

16.2 DNA-UDBYTTER MED BLOD- OG BUFFY COAT-PRØVER

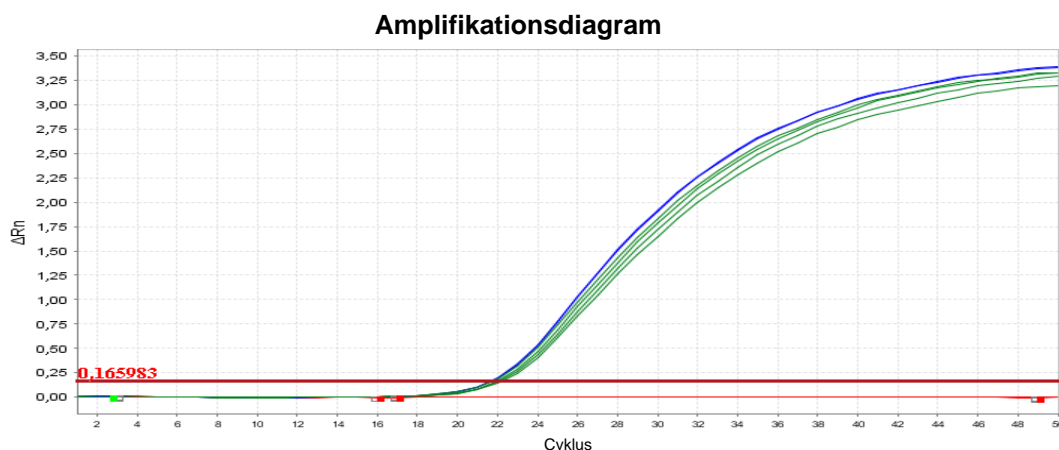
De forventede DNA-udbytter for ekstraktionen fra humant blod og buffy coat afhænger af antallet af hvide blodlegemer. Antallet af ekstraherede hvide blodlegemer bestemmes af input-volumen og antallet af hvide blodlegemer (WBC). For de fleste prøver er antallet af hvide blodlegemer ikke kendt, men for raske personer er der mellem 4-10 mio. hvide blodlegemer pr. mL blod. IVD-1074-kittet, der bruger protokollen "**chemagic BBS DNA 360 H24 prefilling VD190913.che**", ekstraherer i gennemsnit 4,38 µg pr. hvide blodlegeme. Brug af 4 mL blod med et antal hvide blodlegemer på 8,2 mio. pr. mL blod som input forventes at give 150 µg DNA.

Tabel 1: Gennemsnitligt udbytte, %CV (standardafvigelse) og renhed af ekstraheret DNA ved brug af IVD-1074-kittet ekstraheret med chemagic 360-D-instrumentet.

Prøvemateriale/ opbevarings- betingelse	Volumen [mL]	WBC [mio. celler/ mL blod]	Gennem- snitligt udbytte [µg]	CV [%]	Gennem- snitlig renhed [260/280]
Blod 1/4 °C	4	8,2	150,0	9,2	1,84
Blod 1/-20 °C	4	8,2	141,1	8,3	1,79
Blod 3/4 °C	2	6,2	73,3	2,4	1,85
Blod 4/4 °C	2	5,7	61,7	1,9	1,86
Blod 4/4 °C	4	5,7	98,7	12,0	1,86
Blod 4/-20 °C	4	5,7	94,2	8,2	1,81
Buffy coat*	4	5,7	125,5	10,0	1,72
Spyt/4 °C	4	ikke relevant	42,3	20,9	1,78

*Buffy coat blev genereret fra 5 mL blod 4

Fra alle ekstraktioner, herunder forskellige prøvematerialer, opbevaringsbetingelser og input-volumener, blev der anvendt specifikke eluater i en human albumin qPCR for at påvise egnetheden af det ekstraherede DNA til enzymatiske reaktioner. Alle eluater udført uden problemer – se eksemplet på qPCR-diagrammet herunder.



Figur 2: qPCR-kurver for DNA-eluatet ekstraheret med chemagic 360-D ved brug af IVD-1074-kittet. Rød – negativ kontrol, blå – positiv kontrol, grøn ekstraheret DNA fra blod 1.

17. RENGØRING OG VEDLIGEHOLDELSE

Rengøring og vedligeholdelse af systemet er beskrevet i detaljer i brugervejledningen til chemagic 360-D. Systemrengøringen udføres én gang om ugen. Rengør chemagic Dispenser på følgende måde.

- Vælg protokollen "**regular cleaning procedure 24 dispenser 360 V150116.che**", og tryk på [Insert IDs] eller [Start], hvis de pågældende funktioner er deaktiveret. Følg anvisningerne i softwaren.
- Før næste brug af chemagic Dispenser skal du udføre den relevante priming-protokol.
- Det anbefales at rengøre chemagic Dispenser med 70 % ethanol en gang om måneden. Brug blot "**intensive cleaning procedure H24 dispenser 360 V150116.che**" i stedet for den regelmæssige procedure til dette formål.
- Hvis chemagic Dispenser ikke skal bruges i en længere periode, skal den "almindelige rengøringsprocedure" udføres for at bevare instrumentets ydeevne, indtil det igen tages i brug.

18. DOWNSTREAM-APPLIKATIONER

De følgende downstream-applikationer er blevet udført og beskrevet i litteraturen efter isolering af genomisk DNA.

Tabel 2: Downstream-applikationer, som er fagfællebedømt og udgivet.

Prøve-materiale	Downstream-applikation	Titel	Reference
Blod	Genotypebestemmelse, DNA-metyleringsanalyse, PCR, sekventering	Identification of dynamic glucocorticoid-induced methylation changes at the FKBP5 locus	Wiechmann et al. Clinical Epigenetics 11 Article Number 83 (2019) https://clinicalepigeneticsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13148-019-0682-5#Abs1
Fuldblod	Metyleringsanalyse	A new molecular classification to drive precision treatment strategies in primary Sjögren's syndrome	Soret P. et al. Nature Communications 12, Article number: 3523 (2021) https://www.nature.com/articles/s41467-021-23472-7
Lymfocytter	Long-range PCR, NGS, Sangersekventering, MLPA	Advances in genetic technologies result in improved diagnosis of mismatch repair deficiency in colorectal and endometrial cancers	Evans D.G. et al. Med Genet: first published as 10.1136/jmedgenet-2020-107542 (2021) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33452216/
Spyt	Genomisk sekventering, qPCR	Genetic Effect of Chemotherapy Exposure in Children of Testicular Cancer Survivors	Gregory V. et al. Clinical Cancer Research Volume 22, Issue 9 (2016) https://aacrjournals.org/clinicalres/article/22/9/2183/79766/Genetic-Effect-of-Chemotherapy-Exposure-in

19. YDERLIGERE SPØRGSMÅL

For yderligere applikationer, tekniske spørgsmål eller flere oplysninger om, hvordan dataene blev genereret, kan du kontakte os på support.chemagen@revvity.com eller +49 (0) 2401805500.

20. PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

IVD-1074-kittet er valideret til ekstraktion af DNA fra blod, buffy coat og spyt. Andre prøvematerialer som f.eks. lysater fra væv, celler eller buccale podeprøver kan være kompatible men er endnu ikke blevet valideret. For sådanne materialer skal brugeren udføre en validering.

Brug af heparinstabiliserede blodprøver kan forårsage hæmning i downstream-applikationer og anbefales derfor ikke.

21. PÅVIRKNING FRA INTERFERERENDE STOFFER

Påvirkningen fra interfererende stoffer i humant fuldblod human, som kan interferere med DNA-ekstraktionen, blev testet i fuldblod. De testede stoffer og koncentrationer er angivet i tabellen nedenfor. På baggrund af resultaterne blev det konkluderet, at de testede stoffer ikke interfererede med DNA-ekstraktionen.

Tabel 3: Påvirkning fra interfererende stoffer.

Interfererende stoffer	Koncentration [µg/mL]	Interferens
Bilirubin, konjugeret	332	Nej
Bilirubin, ukonjugeret	200	Nej
Triglycerider	30	Nej
Humant serumalbumin	30	Nej



22. GARANTI

Enhver ændring af proceduren, som ikke er anbefalet af producenten, kan påvirke resultaterne, og i sådanne tilfælde frasiger Revvity chemagen Technologie GmbH og dets datterselskaber sig alle garantier det være sig udtrykkelige, underforståede eller lovbestemte garantier, inklusive underforståede garanti med hensyn til salgbarhed og egnethed til anvendelse.

Revvity chemagen Technologie GmbH, dets datterselskaber og autoriserede forhandlere påtager sig i sådanne tilfælde intet ansvar for indirekte skader eller følgeskader.

Maj 2024

www.revvity.com

revvity