

INSTRUKCJA TECHNICZNA

# Wzorzec matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard

Instrukcja użytkowania produktu  
MD3850



INSTRUKCJA  
UŻYTKOWANIA  
PRODUKTU

**MD3850**



Rev 0  
TM597



**PROMEGA**  
2800 Woods Hollow Rd.  
Madison, WI USA





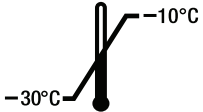










MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
30175 Hanower, Niemcy

# Wzorzec matrycy OncoMate™

## 5C Matrix Standard

|  |    |
|--|----|
| 1. Nazwa produktu .....                                      | 3  |
| 2. Przeznaczenie .....                                       | 3  |
| 3. Podsumowanie i wyjaśnienia .....                          | 3  |
| 4. Zasada badania .....                                      | 3  |
| 5. Składniki produktu i warunki przechowywania .....         | 4  |
| 5.1 Materiały dostarczane .....                              | 4  |
| 5.2 Przechowywanie i obchodzenie się z produktem .....       | 5  |
| 5.3 Materiały niedostarczane .....                           | 5  |
| 6. Wymagania aparatury do elektroforezy kapilarnej .....     | 6  |
| 7. Przygotowanie aparatury do elektroforezy kapilarnej ..... | 6  |
| 8. Analiza Matrix Standard .....                             | 7  |
| 9. Interpretacja wyników .....                               | 9  |
| 10. Rozwiązywanie problemów .....                            | 10 |
| 11. Powiązane wyroby .....                                   | 13 |

## Objaśnienie symboli

| Symbol  | Objaśnienie   | Symbol   | Objaśnienie  |
|---|---|--|--|
|    | Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro  |   | Numer partii   |
|    | Przechowywać w temperaturze od $-30^{\circ}\text{C}$ do $-10^{\circ}\text{C}$ . |   | Wytwórca   |
|    | Nie używać ponownie   |   | Środek drażniący   |
|    | Numer katalogowy  |   | Zawiera ilość wystarczającą do przeprowadzenia $\langle n \rangle$ badań |
|    | Data ważności   |   | Chronić przed światłem   |
|   | Sprawdź w instrukcji użytkowania  |  | Autoryzowany przedstawiciel  |
|  | Conformité Européenne   |  |  |

## 1. Nazwa produktu

### Wzorzec matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard

Nr artykułu MD3850

## 2. Przeznaczenie

Wzorzec matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard jest przeznaczony do użytku w diagnostyce in vitro (IVD) jako wyrób medyczny stanowiący dodatkowe wyposażenie systemu do analizy OncoMate™ MSI Dx Analysis System (nr kat. MD3140). Wzorca używa się do kalibracji spektralnej aparatów do elektroforezy kapilarnej przed analizą produktów amplifikacji uzyskanych za pomocą systemu do analizy OncoMate™ MSI Dx Analysis System. Produkt jest przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego.

## 3. Podsumowanie i wyjaśnienia

System do analizy OncoMate™ MSI Dx Analysis System wykorzystuje multipleksową reakcję łańcuchową polimerazy (PCR) do generowania fragmentów DNA znakowanych trzema różnymi barwnikami fluorescencyjnymi: fluoresceiną, JOE oraz TMR-ET. Podczas analizy za pomocą elektroforezy kapilarnej znakowane barwnikiem fragmenty DNA są rozdzielane i wykrywane przez aparat wraz ze wzorcem wielkości Size Standard 500 znakowanym barwnikiem WEN. Przed analizą aparat do elektroforezy kapilarnej musi być poddany kalibracji za pomocą wzorca matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard w celu odróżnienia sygnałów fluorescencyjnych generowanych przez poszczególne barwniki używane w oznaczeniu. Wzorzec matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard<sup>(a,b)</sup> składa się z fragmentów DNA znakowanych pięcioma różnymi barwnikami fluorescencyjnymi (fluoresceiną, JOE, TMR-ET, CXR-ET oraz WEN) w jednej próbce. Kalibrację spektralną przeprowadza się zgodnie z instrukcjami producenta aparatu.

Należy przestrzegać instrukcji obsługi aparatu dostarczonej przez producenta w zakresie właściwych procedur konserwacji aparatu. Na przykład nową kalibrację spektralną należy przeprowadzać po wykonaniu istotnej czynności konserwacyjnej systemu do elektroforezy kapilarnej, takiej jak wymiana źródła wzbudzenia (np. lasera), kalibracja lub wymiana kamery CCD albo zmiana rodzaju polimeru lub zestawu kapilar. Nową kalibrację spektralną należy również przeprowadzić w przypadku zaobserwowania pików podniesionych (ang. bleedthrough/pull-up peak), które zakłócają analizę danych.

## 4. Zasada badania

Podczas części cyklu aparatu do elektroforezy kapilarnej polegającej na gromadzeniu danych fragmenty DNA znakowane barwnikami fluorescencyjnymi są poddawane działaniu źródła światła, co powoduje, że emitują one światło o różnych długościach fali. Emisje te są przechwytywane do dalszej analizy przez zintegrowaną kamerę. Używa się wielu barwników fluorescencyjnych w celu umożliwienia równoczesnego wykrywania fragmentów DNA o podobnym rozmiarze.

#### 4. Zasada badania (ciąg dalszy)

Każdy barwnik fluorescencyjny używany przez system do analizy OncoMate™ MSI Dx Analysis System charakteryzuje się maksymalną emisją światła przy unikalnej długości fali, lecz emituje również światło o innych długościach fali. Nakładanie się emisji spektralnych tych barwników utrudnia identyfikację barwnika będącego źródłem emisji, co zakłóca analizę danych. Dlatego na potrzeby analizy danych mikrosatelitarnych wynikających z używania wielu barwników fluorescencyjnych oprogramowanie do analizy, w które wyposażony jest aparat, musi rozróżniać widma emisji barwników.

Wzorzec do kalibracji spektralnej (wzorzec matrycy) składa się z fragmentów DNA znakowanych fluorescencyjnie, które są analizowane podczas kalibracji spektralnej. Oprogramowanie do gromadzenia danych z elektroforezy kapilarnej analizuje widma emisji tych znakowanych barwnikami fragmentów w celu scharakteryzowania nakładania się widm i utworzenia wieloskładnikowej macierzy dekonwolucyjnej, która jest specyficzna dla każdej kapilary kalibrowanego zestawu. Macierz dekonwolucyjna jest stosowana automatycznie na nieprzetworzonych danych próbki w kolejnych cyklach analizy w celu odizolowania i przypisania zaobserwowanej fluorescencji do poszczególnych barwników.





#### 5. Składniki produktu i warunki przechowywania

##### 5.1 Materiały dostarczane

Produkt zawiera liczbę odczynników wystarczającą do przeprowadzenia pięciu kalibracji spektralnych. Produkt zawiera następujące materiały:

| ELEMENT                      | ROZMIAR       | NR ARTYKUŁU   |
|------------------------------|---------------|---------------|
| <b>Matryca 5C Matrix Mix</b> | <b>150 µl</b> | <b>MD430A</b> |

Zawartość zestawu: Znakowane fluorescencyjnie fragmenty DNA

**Warunki przechowywania:** Obszar poamplifikacyjny;  -30°C przed użyciem;  2°C po pierwszym użyciu. Chroń przed światłem.

| ELEMENT  | ROZMIAR           | NR ARTYKUŁU   |
|--|-------------------|---------------|
| <b>Roztwór buforowy Matrix Dilution Buffer</b> | <b>5 × 200 µl</b> | <b>MD191A</b> |

Zawartość zestawu: Roztwór buforowy na bazie Tris-EDTA

**Warunki przechowywania:** Obszar poamplifikacyjny;  -30°C przed użyciem;  2°C po pierwszym użyciu.

## 5.2 Przechowywanie i obchodzenie się z produktem

Wzorzec matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard należy przechowywać z odczynnikami poamplifikacyjnymi. Po odbiorze wszystkie elementy należy przechowywać w temperaturze od  $-30^{\circ}\text{C}$  do  $-10^{\circ}\text{C}$  w zamrażarce niebezsronowej, z dala od światła. Odczynników nie wolno przechowywać w drzwiach zamrażarki, gdzie mogą występować wahania temperatury. Po pierwszym użyciu elementy wzorca matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard należy przechowywać w temperaturze  $2-10^{\circ}\text{C}$  z dala od światła przez maksymalnie 3 miesiące. Wzorzec matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard jest światłoczuły. Matrycę 5C Matrix Mix należy rozcieńczać w roztworze buforowym Matrix Dilution Buffer w dostarczonej bursztynowej próbówce. Rozcieńczoną matrycę 5C Matrix Mix należy przechowywać w temperaturze  $2-10^{\circ}\text{C}$  przez maksymalnie 6 dni.

**Uwaga:** Nie wolno ponownie zamrażać elementów wzorca matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard.

## 5.3 Materiały niedostarczane

### Odczynniki laboratoryjne

- Hi-Di™ Formamide (Applied Biosystems nr kat. 4404307)

Do kalibracji spektralnej za pomocą wzorca matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard wymagane jest zastosowanie Hi-Di™ Formamide. Formamid należy zamrażać w porcjach, w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$ . Wielokrotne zamrażanie bądź dłuższe przechowywanie w temperaturze  $4^{\circ}\text{C}$  może doprowadzić do rozkładu formamidu.



Formamid działa drażniąco i teratogennie; należy unikać wdychania i kontaktu tej substancji ze skórą. Należy przeczytać etykietę ostrzegawczą i podczas pracy z tą substancją stosować odpowiednie środki ostrożności. Podczas wykonywania poniższych protokołów należy nosić rękawice, odzież ochronną oraz okulary ochronne.

Nieprzestrzeżenie zalecanych protokołów w zakresie przechowywania odczynników do kalibracji spektralnej, przeprowadzania kalibracji spektralnej lub akceptowania/odrzućania wyników kalibracji spektralnej może doprowadzić do artefaktów w postaci pików podniesionych (ang. bleedthrough/pull-up peak) w trakcie poddawania produktów amplifikacji uzyskanych za pomocą systemu do analizy OncoMate™ MSI Dx Analysis System analizie metodą elektroforezy kapilarnej. Piki podniesione mogą zafałszować wyniki oznaczenia lub utrudnić interpretację danych.

### Sprzęt laboratoryjny

- zestaw kalibrowanych pipet precyzyjnych do objętości w zakresie od  $1\ \mu\text{l}$  do  $1000\ \mu\text{l}$
- końcówki pipet odporne na aerozole (od  $10\ \mu\text{l}$  do  $1000\ \mu\text{l}$ )
- próbówki mikrowirówkowe  $1,5\ \text{ml}$
- wirówka kompatybilna z płytkami 96-dółkowymi (np. wirówka minipłytkowa)
- statywy na próbówki mikrowirówkowe
- wytrząsarka
- zamrażarka niebezsronowa zapewniająca zakres temperatur od  $-30^{\circ}\text{C}$  do  $-10^{\circ}\text{C}$
- chłodziarka zapewniająca zakres temperatur od  $2^{\circ}\text{C}$  do  $10^{\circ}\text{C}$

## Aparatura i akcesoria

- Aparatura do elektroforezy kapilarnej i materiały eksploatacyjne, w tym polimer, zestaw kapilar, roztwory buforowe, woda i artykuły do konserwacji zalecane przez producenta aparatury.
- MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate (np. ThermoFisher, nr kat. 4306737)

## 6. Wymagania aparatury do elektroforezy kapilarnej

Produkty amplifikacji uzyskane za pomocą systemu do analizy OncoMate™ MSI Dx Analysis System są rozdzielane i analizowane drogą elektroforezy kapilarnej po kalibracji spektralnej za pomocą wzorca matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard. Charakterystykę roboczą wzorca matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard oraz systemu do analizy OncoMate™ MSI Dx Analysis System oceniono za pomocą cyklu analizatora genetycznego Applied Biosystems® 3500 Dx Genetic Analyzer z włączonym ustawieniem Fragment Analysis (Analiza fragmentów) i konfiguracją obejmującą POP-7® Polymer i zestaw kapilar 50 cm. Aparaty kompatybilne z systemem do analizy OncoMate™ MSI Dx Analysis System oraz wzorcem matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard charakteryzują się następującymi parametrami:

Liczba wykrywanych barwników:  $\geq 5$

Długość zestawu kapilar: długości zestawów odpowiednie do uzyskania rozdzielczości równej jednej parze zasad, w tym 50 cm

Matryca separacyjna: POP-7® Polymer lub odpowiednik

Długość fali wzbudzenia (przybliżona): 480 nm do 520 nm

Elementy optyczne do wykrywania: Barwniki Promega wymagają przechwytywania emisji o długości fali od ok. 500 nm do 630 nm

Zakres rozdzielczości: Rozdzielczość 1 bp od 60 bp do  $\geq 300$  bp

Precyzja wymiarowania (powtarzalność, wyrażona jako odchylenie standardowe):  $\leq 0,15$  bp w zakresie od 60 bp do  $\geq 300$  bp

## 7. Przygotowanie aparatury do elektroforezy kapilarnej


Należy przestrzegać instrukcji producenta w zakresie obsługi i konserwacji wybranego aparatu do elektroforezy kapilarnej. Kalibrację spektralną należy przeprowadzić za pomocą tego samego rodzaju polimeru do elektroforezy kapilarnej oraz tego samego zestawu kapilar, które zostaną następnie użyte do analizy produktów amplifikacji uzyskanych za pomocą systemu do analizy OncoMate™ MSI Dx Analysis System.

1. Upewnić się, że polimer i roztwory buforowe używane w aparacie nie są przeterminowane, a także że dostępna jest liczba próbek i iniekcji wystarczająca do wykonania kalibracji.
2. Jeśli dotyczy, nagrzać piec do elektroforezy kapilarnej zgodnie z instrukcjami producenta co najmniej 30 minut przed rozpoczęciem cyklu.

3. Przed kalibracją spektralną może być wymagana kalibracja przestrzenna aparatu. Dodatkowe informacje znajdują się w instrukcji obsługi wybranego aparatu. Jeżeli aparat do elektroforezy kapilarnej wymaga kalibracji przestrzennej, a nie została ona jeszcze przeprowadzona, należy zrobić to teraz.


**Uwaga:** Aby uzyskać najlepsze rezultaty, zalecamy użycie nowego zestawu kapilar, świeżego polimeru oraz świeżego roztworu buforowego.

## 8. Analiza Matrix Standard

- 
1. Przy pierwszym użyciu rozmrozić całkowicie matrycę 5C Matrix Mix oraz roztwór buforowy Matrix Dilution Buffer. Po pierwszym użyciu odczynniki przechowywać w temperaturze 2–10°C z dala od światła.
  2. Wirować matrycę 5C Matrix Mix przez 10–15 sekund z maksymalną prędkością. Dodać 10 µl matrycy 5C Matrix Mix do jednej próbki z roztworem buforowym Matrix Dilution Buffer. Wirować przez 10–15 sekund z maksymalną prędkością. Datę rozcieńczenia odnotować na próbówce.

**Uwaga:** Rozcieńczoną matrycę 5C Matrix Mix można przechowywać w temperaturze 2–10°C przez maksymalnie 6 dni.

3. Dodać 10 µl rozcieńczonej matrycy 5C Matrix Mix (przygotowanej w kroku 2) do 500 µl Hi-Di™ Formamide. Wirować przez 10–15 sekund z maksymalną prędkością.
4. Dodać 15 µl mieszaniny formamidu i matrycy (sporządzonej w kroku 3) do każdego dołka, z którego zestaw kapilar będzie pobierał próbkę podczas kalibracji spektralnej. Liczba dołków wymagana do kalibracji spektralnej zależy od danego aparatu oraz zestawu wybranego do dalszej analizy produktów amplifikacji uzyskanych za pomocą systemu do analizy OncoMate™ MSI Dx Analysis System.
5. Przykryć płytkę zgodnie z instrukcjami producenta aparatu i krótko wirować płytkę tak, aby mieszanina w każdym dołku opadła na dno oraz aby usunąć pęcherzyki powietrza.



**Uwaga:** Nie wolno denaturować płytki 96-dołkowej zawierającej mieszaninę formamidu i matrycy metodą termiczną. Całą nieużytą mieszaninę formamidu i matrycy należy wyrzucić.

6. Załadować płytkę do wybranego aparatu do elektroforezy kapilarnej i wykonać kalibrację spektralną zgodnie z instrukcją obsługi aparatu. Tabela 1 zawiera ustawienia aparatu używane do kalibracji spektralnej za pomocą wzorca matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard. Niektóre ustawienia opisane w tabeli 1 mogą nie mieć zastosowania do wszystkich aparatów do elektroforezy kapilarnej. Należy zapoznać się z instrukcją obsługi aparatu do elektroforezy kapilarnej lub skontaktować się z lokalnym oddziałem firmy Promega lub dystrybutorem, lub napisać wiadomość na adres e-mail: [genetic@promega.com](mailto:genetic@promega.com), aby uzyskać dodatkowe informacje.

**Uwaga:** Przed wykonaniem pierwszej kalibracji spektralnej za pomocą wzorca matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard konieczne będzie utworzenie nowego ustawienia Dye Set (Zestaw barwników). Należy użyć ustawienia Dye Set (Zestaw barwników), które jest specyficzne dla barwników używanych we Matrix Standard (fluoresceina, JOE, TMR-ET, CXR-ET oraz WEN) lub ogólnego zestawu barwników (np. AnyDye [Dowolny barwnik] lub odpowiednika) jako szablonu. Zastosowanie nieodpowiedniego ustawienia Dye Set (Zestaw barwników) do kalibracji spektralnej może doprowadzić do pogorszonej równowagi sygnału barwnika między wykrywanymi fragmentami podczas analizy fragmentów.

**Tabela 1. Ustawienia używane do kalibracji spektralnej za pomocą wzorca matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard.**

| <b>Kategoria</b>  | <b>Ustawienia</b>   |
|---|---|
| Liczba barwników<br>(tj. kolorów)   | 5   |
| Dye Set<br>(Zestaw barwników)   | Specyficzny <sup>1</sup> , AnyDye (Dowolny barwnik) lub odpowiednik |
| Dye Order<br>(Kolejność barwników)  | 1, pomarańczowy; 2, czerwony; 3, żółty; 4, zielony; 5, niebieski    |
| Minimum Quality Value<br>(Minimalna wartość jakości)                                | 0,95  |
| Maximum Condition Number<br>(Maksymalna liczba warunków)                            | 8,0   |
| Sensitivity<br>(Czułość)  | 0,4   |
| Locate Start Point After Scan<br>(Lokalizacja punktu startowego po skanowaniu)      | 300   |
| Locate Start Point Before Scan<br>(Lokalizacja punktu startowego przed skanowaniem) | 5000  |
| Limit Scans to<br>(Ograniczenie skanów do)  | 6500  |

<sup>1</sup>Zestaw barwników specjalnie opracowany dla fluoresceiny, JOE, TMR-ET, CXR-ET i WEN

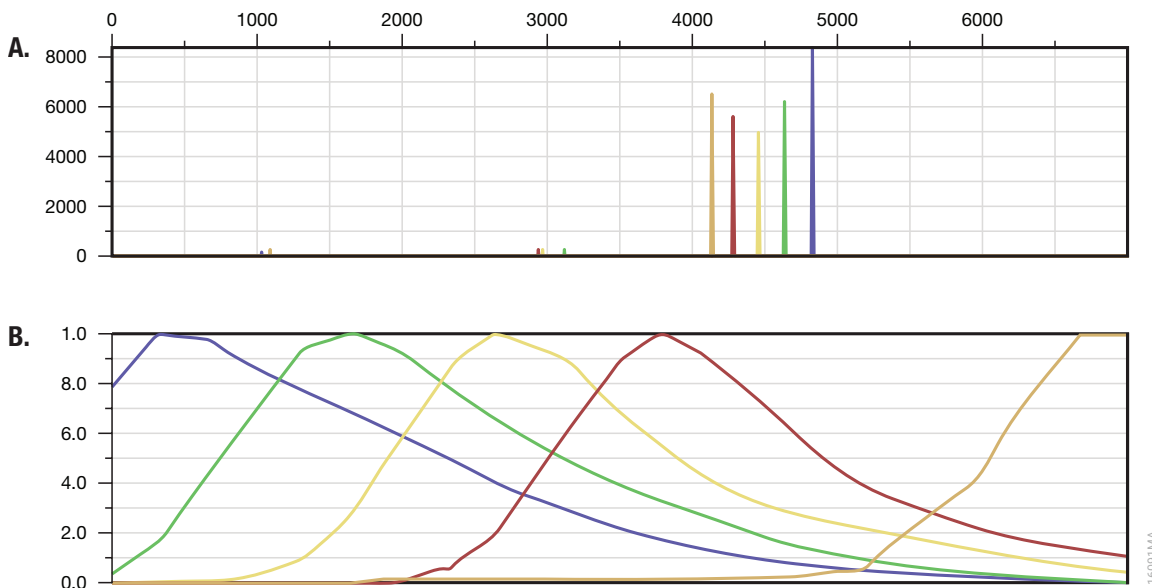
## 9. Interpretacja wyników

- Po ukończeniu cyklu kalibracji spektralnej należy skontrolować wyniki kalibracji spektralnej. W odniesieniu do każdej kapilary należy sprawdzić parametr Quality Value (Wartość jakości) oraz Condition Number (Liczba warunków) kalibracji spektralnej i sprawdzić wyświetlane dane dotyczące emisji spektralnych. Prawidłowe kapilary będą miały parametr Quality Value (Wartość jakości) wynoszący  $\geq 0,95$ , a parametr Condition Number (Liczba warunków)  $\leq 8,0$ . Należy upewnić się, że kolejność (od lewej do prawej) pików analizowanych fragmentów na ekranie wyświetlającym intensywność względem liczby skanów to pomarańczowy, czerwony, żółty, zielony i niebieski (rysunek 1, panel A). Należy upewnić się, że kolejność (od lewej do prawej) sygnałów barwników na ekranie wyświetlającym widma emisji to niebieski, zielony, żółty, czerwony i pomarańczowy (rysunek 1, panel B).

**Uwaga:** Parametr Quality Value (Wartość jakości) dla każdej kapilary w przypadku prawidłowej kalibracji spektralnej wynosi zwykle  $\geq 0,98$ .

- Jeżeli wszystkie kapilary są prawidłowe, a odpowiednie dane dotyczące emisji zostały wyświetlone poprawnie, należy zaakceptować kalibrację spektralną. W innym wypadku kalibrację spektralną należy odrzucić i zapoznać się z rozdziałem 10 dotyczącym rozwiązywania problemów.

**Uwaga:** Jeżeli podczas kalibracji spektralnej użyto opcji borrowing (pożyczenie), należy sprawdzić wymaganą liczbę prawidłowych kapilar w instrukcji obsługi aparatu do elektroforezy kapilarnej.



**Rysunek 1. Reprezentatywne dane dotyczące wzorca matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard.**

**Panel A.** Piki analizowanych fragmentów. **Panel B.** Widma emisji barwników.

## 10. Rozwiązywanie problemów

W przypadku problemów, których nie poruszono w niniejszym rozdziale, należy zapoznać się z instrukcją obsługi aparatu do elektroforezy kapilarnej lub skontaktować się z lokalnym oddziałem firmy Promega lub dystrybutorem. Informacje kontaktowe są dostępne pod adresem: **www.promega.com**; e-mail: **genetic@promega.com**.

### Objawy

Wykryto skok sygnału elektroforezy kapilarnej lub błąd w kolejności barwników

### Przyczyny i komentarze

W polimerze obecne były zanieczyszczenia lub osady kryształów. Należy upewnić się, że nowo dodawany polimer ma temperaturę pokojową zgodnie z instrukcjami producenta. Powtórzyć kalibrację spektralną. W razie konieczności wymienić polimer.

W płynach obecnych w aparacie znajdowały się pęcherzyki powietrza. Na podstawie instrukcji obsługi aparatu do elektroforezy kapilarnej należy ustalić, jak usunąć pęcherzyki powietrza z płynów znajdujących się w aparacie, a następnie powtórzyć kalibrację spektralną.

Kalibracja spektralna się nie udała lub nie wykryto żadnego sygnału

Wystąpił błąd w komputerze systemowym. Należy uruchomić ponownie aparat do elektroforezy kapilarnej i komputer aparatu zgodnie z instrukcjami producenta. Powtórzyć kalibrację spektralną.

Aparat nie został odpowiednio nagrany. W razie konieczności upewnić się, że piec aparatu został nagrany do 60°C co najmniej 30 minut przed kalibracją. Powtórzyć kalibrację spektralną.

Materiały eksploatacyjne do aparatu się przeterminowały lub została naruszona ich jakość. Aby uzyskać najlepsze wyniki kalibracji spektralnej, należy użyć świeżego polimeru, świeżych roztworów buforowych oraz zestawu kapilar z liczbą iniekcji poniżej 100.

Wybrano ustawienie Dye Set (Zestaw barwników) nieodpowiednie do kalibracji spektralnej lub ustawienia kalibracji spektralnej dotyczące ustawienia Dye Set (Zestaw barwników) zostały nieprawidłowo zaprogramowane. Upewnić się, że używany jest 5-kolorowe ustawienie Dye Set (Zestaw barwników) barwników oraz że ustawienia analizy dotyczące 5-kolorowego ustawienia Dye Set (Zestaw barwników) zostały dokładnie zaprogramowane (patrz tabela 1).

## Objawy

Kalibracja spektralna się nie udała lub nie wykryto żadnego sygnału (ciąg dalszy)

## Przyczyny i komentarze

W trakcie kalibracji spektralnej wykryto za mało pików fragmentów lub wykryto nieprawidłowe piki. Obecne były pozostałości z poprzednich iniekcji lub odczynniki matrycy były przeterminowane lub nieprawidłowo przechowywane. Powtórzyć kalibrację spektralną z użyciem prawidłowo przechowywanych i nieprzeterminowanych odczynników, jeśli dotyczy. Przed powtórzeniem kalibracji spektralnej może być konieczne wykonanie ślepej iniekcji (wyłącznie Hi-Di™ Formamide).

Wzorzec matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard został sporządzony w sposób nieprawidłowy. Przygotować świeżo rozcieńczoną matrycę 5C Matrix Mix zgodnie z opisem w rozdziale 8 i przeprowadzić nową kalibrację spektralną.

Wzorzec matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard był przeterminowany lub jego jakość uległa pogorszeniu z powodu nieprawidłowych warunków przechowywania. Należy zweryfikować datę ważności i warunki przechowywania Matrix Standard. W razie konieczności powtórzyć kalibrację spektralną za pomocą prawidłowo przechowywanych i nieprzeterminowanych odczynników.

Zablokowanie jednej lub większej liczby kapilar. Napełnić zestaw kapilar ponownie i powtórzyć kalibrację spektralną. W razie konieczności zamontować nowy zestaw kapilar.

Matrix Standard był zbyt mocno rozcieńczony. Zbyt mocno rozcieńczony Matrix Standard będzie powodował niskie piki kalibracji spektralnej, które mogą być przyczyną niepowodzenia kalibracji spektralnej. Powtórzyć kalibrację spektralną, upewniając się, że matryca 5C Matrix Mix jest uprzednio wystarczająco wirowana oraz że stosunek rozcieńczanej matrycy 5C Matrix Mix do Hi-Di™ Formamide jest odpowiedni. W razie konieczności zwiększyć objętość rozcieńczanej matrycy 5C Matrix Mix dodawanej do formamidu podczas sporządzania próbki.

## 10. Rozwiązywanie problemów (ciąg dalszy)

### Objawy

Kalibracja spektralna się nie udała lub nie wykryto żadnego sygnału (ciąg dalszy)

### Przyczyny i komentarze

Matrix Standard był zbyt stężony. Zbyt stężony Matrix Standard będzie prowadził do zbyt wysokich pików kalibracji spektralnej. Zbyt wysokie piki kalibracji spektralnej mogą doprowadzić do pików podniesionych lub nadmiernej subtrakcji w innych kolorach barwników oraz niepowodzenie kalibracji spektralnej. W razie konieczności zmniejszyć objętość rozcieńczonej matrycy 5C Matrix Mix dodawanej do formamidu podczas sporządzania próbki. Powtórzyć kalibrację spektralną, upewniając się, że matryca 5C Matrix Mix jest uprzednio wystarczająco wirowana oraz że stosunek matrycy 5C Matrix Mix do Hi-Di™ Formamide jest odpowiedni.

Użyto formamidu o niskiej jakości. Jakość formamidu ma istotne znaczenie. Do wzorca matrycy OncoMate™ 5C Matrix Standard należy używać wyłącznie Hi-Di™ Formamide. Po pierwszym użyciu formamid należy zamrażać w porcjach, w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$ . Wielokrotne zamrażanie bądź dłuższe przechowywanie w temperaturze  $4^{\circ}\text{C}$  może doprowadzić do rozkładu formamidu. Formamid o niskiej jakości oraz formamid narażony na cykle zamrażania i rozmrażania zawiera jony, które konkurują z DNA podczas iniekcji. Prowadzi to do niższych pików i zmniejszonej czułości podczas elektroforezy kapilarnej.

Końcówki kapilar nie miały kontaktu z Matrix Standard. Upewnić się, że do każdego dołka 96-dolkowej płytki dodano 15  $\mu\text{l}$  mieszaniny formamidu i matrycy oraz że płytkę wirowano odpowiednio przed rozpoczęciem kalibracji spektralnej.

## 11. Powiązane wyroby

| <b>Produkt</b>                                     | <b>Ilość</b> | <b>Nr kat.</b> |
|--|--------------|----------------|
| System do analizy OncoMate™ MSI Dx Analysis System | 100 reakcji  | MD3140         |

<sup>a)</sup>Amerykańska publikacja patentowa nr 9,139,868, europejska publikacja patentowa nr 2972229 oraz inne zgłoszone wnioski patentowe.

<sup>b)</sup>TMR-ET, CXR-ET oraz WEN to produkty chronione patentem.

© 2019 Promega Corporation. Wszelkie prawa zastrzeżone.

OncoMate jest znakiem towarowym firmy Promega Corporation.

Applied Biosystems jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Applied Biosystems. Hi-Di jest znakiem towarowym firmy Applera Corporation. MicroAmp oraz POP-7 to zastrzeżone znaki towarowe firmy Thermo Fisher Scientific.

Produkty mogą być przedmiotem zgłoszonych bądź przyznanych patentów lub mogą podlegać pewnym ograniczeniom. Więcej informacji można znaleźć na naszej stronie internetowej. Wszystkie ceny i dane techniczne mogą ulec zmianie bez wcześniejszego powiadomienia.

Oświadczenia dotyczące produktów mogą ulec zmianie. Aby uzyskać aktualne informacje na temat produktów firmy Promega, należy skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy Promega lub zapoznać się z katalogiem produktów firmy Promega dostępnym w Internecie.