Vzorová směs DNA k použití při testech multiplexní PCR v reálném čase bez nutnosti použití referenčního barviva ROX.

REF 99-56255

Verze 06-56255-01

**Vzorová směs RealPCR\* MilQ-ID DNA Master Mix**

 Pouze pro veterinární účely.

**Název a určené použití**

RealPCR MilQ-ID DNA Master Mix je 2.5X vzorová směs pro PCR v reálném čase, která je doporučena k testování s činidly RealPCR, u nichž není nutné použít referenční barvivo ROX.

|  |
| --- |
| Materiál a uchovávání |
|  |  | Množství | Uchovávání |  |
| Označení / obecné informace | Barva uzávěru | 100 testů | Při převzetí | Po rekonstituci | Cykly zmrazení/rozmrazení |
| Vzorová směs RealPCR MilQ-ID DNA Master Mix (MilQ-ID MMx) | Červená | 1 x 1,0 ml | -25 až -15 °C | Nerelevantní | <6 |
|  |  |  |  |  |  |
| 99-56255 |  |  |  |  |  |
| Vzorová směs RealPCR MilQ-ID DNA Master Mix obsahuje hot-start polymerázu a nukleotidy. MilQ-ID MMx neobsahuje referenční barvivo ROX. |
|  |
| Pozitivní kontrola RealPCR, suchá (PC) | Modrá | 1 x 500 µl | -25 až 8 °C | -25 až -15 °C | <6 |
| 99-56310 |  |  |  |  |  |
| Rekonstituujte pomocí čištěné vody určené pro metodu PCR (PCR Grade Water) pro dosažení objemu 500 µl. Při práci s cílovými směsmi RealPCR doporučujeme používat pozitivní kontrolní vzorek RealPCR, který obsahuje všechny RealPCR a interní kontrolní cíle společnosti IDEXX. Datum exspirace na lahvičce platí pro suchou i rekonstituovanou formu. Pozitivní kontrolní vzorek (PC) je označen číslem verze (např. v1.3). Jakmile jsou pro produktovou řadu RealPCR vytvořeny nové cíle, sekvence jsou přidány do pozitivního kontrolního vzorku RealPCR a číslo verze se aktualizuje (např. v1.3 se zvýší na v1.4). |
|  |
|  |
|  |
|  |
| PC obsahuje unikátní sekvenční signaturu IDEXX, kterou je možné použít k monitorování kontaminace pracovních oblastí pozitivním kontrolním vzorkem (PC). Laboratoře, které chtějí monitorovat kontaminaci pozitivním kontrolním vzorkem (PC), mohou použít samostatnou směs RealPCR PC Tracker DNA Mix obsahující primery a sondy pro sekvenční signaturu IDEXX. |
|  |
|  |
| RealPCR interní pozitivní kontrola (IPC), suchá | Bílá | 1 x 500 µl | -25 až 8 °C | -25 až -15 °C | <6 |
| 99-56330 |  |  |  |  |  |
| Rekonstituujte pomocí vody PCR Grade pro dosažení objemu 500 µl. IPC obsahuje interní kontrolní cíl pro systém RealPCR MilQ-ID. Pro každou extrakci použijte 4 µl rekonstituovaného IPC. Datum exspirace na lahvičce platí pro suchou i rekonstituovanou formu. IPC je označena číslem verze (např. v1.3). Jakmile jsou pro produktovou řadu RealPCR vytvořeny nové cílové interní kontroly, cílové sekvence jsou přidány do IPC a číslo verze IPC se aktualizuje (např. v1.3 se zvýší na v1.4). |
|  |
|  |
|  |
|  |
| Voda RealPCR PCR Grade | Čirá | 2 x 1,0 ml | -25 až 8 °C | Nerelevantní |
| 99-56350 |  |  |  |  |  |
| Čištěná voda určená pro PCR metodu (PCR Grade Water) je kvalifikována pro použití při PCR v reálném čase. Používá se k rekonstituci činidel RealPCR. Používá se také jako PCR negativní kontrolní vzorek pro každou testovací várku. Lahvičky s touto vodou nepřesunujte mezi různými pracovními oblastmi PCR. Pro každou oblast je nutné použít samostatnou lahvičku s vodou, aby nedošlo ke kontaminaci. |
|  |
|  |
| **Poznámka:** V tabulce na konci této příbalové informace je uveden popis symbolů používaných v příbalové informaci a na etiketě. |

**Potřebné materiály, které nejsou součástí soupravy**

* Cílově-specifická směs primer/sonda (doporučujeme směsi MilQ-ID)
* Komerční souprava pro extrakci nukleové kyseliny (doporučujeme soupravu MilQ-ID Magnetic Bead Kit)
* Volitelné – centrifuga s rotorem a adaptéry pro destičky s více jamkami
* Mikrocentrifuga pro odstřeďování mikrozkumavek o objemu 2 ml, která může dosáhnout 1500 až 3000 × g
* Vhodné osobní ochranné pomůcky (např. rukavice, laboratorní plášť)
* Pipetové špičky odolné vůči aerosolům a neobsahující nukleázu
* Sterilní mikrozkumavky pro přípravu směsi PCR
* Pipety (5–1000 µl); speciální pipety pro přípravu směsi PCR
* Vortex pro míchání 2ml mikrozkumavek
* 96 nebo 384jamkové PCR destičky a optické adhezivní fólie/kryty destiček
* Přístroj pro PCR v reálném čase (Applied Biosystems 7500, QuantStudio 5)

**Laboratorní postupy a varování**

* Nepoužívejte činidla po datu exspirace.
* Celý proces je nutné provádět za nepřítomnosti nukleázy.
* Při práci s činidly a nukleovými kyselinami používejte rukavice bez pudru.
* Pro zabránění zkřížené kontaminace provádějte veškeré příslušné činnosti s použitím špiček pipet bez nukleázy, které jsou odolné vůči aerosolům, a fyzicky separujte pracoviště, kde dochází k extrakci nukleové kyseliny (a manipulaci s ní), nastavení PCR a provádění PCR.
* Odpad likvidujte podle místních právních předpisů.
* Uchovávejte mimo dohled a dosah dětí. Veterinární přípravek.

**Rekonstituce suchých složek**

Pozitivní kontrolní vzorek RealPCR a interní pozitivní kontrolní vzorek RealPCR rekonstituujte pipetováním vody PCR Grade pro dosažení objemu uvedeného na etiketě příslušné složky. Roztok nechte stát po dobu nejméně 10 minut při teplotě 18 až 26 °C. Před použitím promíchejte a krátce odstřeďte pomocí mikrocentrifugy. Po rekonstituci pozitivního kontrolního vzorku jsou připraveny příslušné alikvoty a PC je uchováván ve zmraženém stavu. Zmražené alikvoty nechte před použitím rozmrazit po dobu přibližně 15 až 30 minut při teplotě 18 až 26 °C, jemně je promíchejte a krátce odstřeďte pomocí mikrocentrifugy (~1 500 až 3 000 × g).

|  |
| --- |
| **Postup testu** |
| **1** | Příprava směsi PCR Mix.• Rozmrazenou směs MilQ-ID MMx promíchejte převrácením nebo jemným vortexováním zkumavky.• MilQ-ID MMx je viskózní roztok, který je nutné pipetovat pomalu.• Směs PCR Mix připravíte aplikací 10 µl směsi primer/sonda a 10 µl MilQ-ID MMx na každou reakci.• Při přípravě směsi PCR Mix nejprve pipetujte směs primer/sonda do zkumavky a poté přidejte směs MilQ-ID MMx. Propláchněte špičku pipety s MMx tak, že roztok několikrát nasajete do pipety a opět vypustíte.• Důkladně promíchejte jednotlivé složky mírným vortexováním roztoku.• Směs PCR Mix pomalu pipetujte do příslušných jamek PCR destičky.Směs PCR Mix aplikujte na PCR destičku do 20 minut, anebo ji můžete uchovávat při teplotě 2 až 8 °C po dobu 8 hodin. Směs PCR Mix je možné uchovávat po dobu až 2 týdnů při teplotě -25 až -15 °C. |
| 2 | Pipetou aplikujte 20 µl směsi PCR Mix do příslušných jamek destičky s více jamkami. |
| 3 | Do každé jamky pipetujte 5 µl vzorku nukleové kyseliny. Konečný objem pro reakci je 25 µl. |
| 4 | Pro každou testovanou směs PCR Mix použijte jamky pro pozitivní kontrolní vzorek PCR (5 μl) a pro negativní kontrolní vzorek PCR (5 μl vody PCR Grade). |
| 5 | Destičku uzavřete krytem, a pokud je třeba, jemně ji odstřeďte, aby se obsah jamek usadil a uvolnily se vzduchové bublinky. |
| 6 | Pomocí programu RealPCR MilQ-ID Cycling Program (níže) nastavte termocykler. |

|  |  |
| --- | --- |
| **7** | Ověřte aktuálnost kalibrace přístroje a zkontrolujte, zda je nastaven na snímání fluorescence pro tyto filtry: FAM (470-520 nm), VIC (520-558 nm), NED (550-586 nm), ROX (580-623 nm), Cy5 (640-682 nm). Zhášeč na přístroji nastavte na BHQ (není). |
| **8** | Destičku vložte do přístroje PCR a zahajte cyklus testování.Program RealPCR\* MilQ-ID DNA Master Mix Cycling Program |
|  |  |  | Teplota |  | Čas |  | Cykly |  |
|  | Denaturace |  | 95 °C |  | 1 min |  | 1 |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  | Amplifikace\* |  | 95 °C |  | 15 s |  | 45 |  |
|  |  |  | 60 °C |  | 30 s |  |  |  |
|  | \*Nastavte přístroj tak, aby zaznamenával fluorescenci až po amplifikaci při 60 °C. |  |
| **9** | Analýza dat. Když je cyklus hotový, analyzujte pomocí softwaru RealPCR Connect (od společnosti IDEXX) výsledky testování vzorku. Soubor s daty o testovacím cyklu uložte do počítače používaného k analýze dat nebo si pro import dat do softwaru připravte adresář v příslušném umístění. Další pokyny najdete v návodu k použití softwaru RealPCR Connect. |

Odbornou pomoc získáte zde:

IDEXX USA Tel: +1 800 548 9997 nebo +1 207 556 4895 IDEXX Europe Tel: +800 727 43399

Obraťte se na oblastního manažera nebo distributora IDEXX nebo navštivte naši webovou stránku: idexx.com/contactlpd

*Níže uvedené informace garantuje držitel rozhodnutí o schválení, není předmětem posouzení v rámci řízení o schválení veterinárního přípravku:*

\*IDEXX, RealPCR a Test With Confidence jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti IDEXX Laboratories, Inc. nebo jejích obchodních poboček v USA a/nebo dalších zemích. Všechny další produkty a názvy a loga společností jsou ochrannými známkami svých držitelů.

Informace o patentu: idexx.com/patents

© 2022 IDEXX Laboratories, Inc. Všechna práva vyhrazena.

|  |  |
| --- | --- |
|  | Popis symbolů |
|  | Číslo šarže |
|  | Sériové číslo |
|  | Katalogové číslo |
|  | Autorizovaný zástupce v Evropském společenství |
|  | Použijte do |
|  | Datum výroby |
|  | Výrobce |
|  | Teplotní limity |
|  | Viz návod k použití |
|  | Důležitá změna v pokynech pro uživatele |

IDEXX Laboratories, Inc.

One IDEXX Drive

Westbrook, Maine 04092

USA

Výrobce:

IDEXX Montpellier SAS

326 rue de la Galéra

34090 Montpellier

Francie

Zástupce pro EU a držitel rozhodnutí o schválení:

IDEXX B.V.

P.O. Box 1334

2130 EK Hoofddorp

Nizozemsko

Idexx.com