

# **cobas<sup>®</sup> DNA Sample Preparation Kit**

Skirtas *in vitro* diagnostikai



**cobas<sup>®</sup> DNA Sample Preparation Kit**

24 Tests

M/N: 05985536190

**TURINYS**

|                                                            |           |
|------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Paskirtis .....</b>                                     | <b>3</b>  |
| <b>Procedūros principai .....</b>                          | <b>3</b>  |
| Mėginio paruošimas.....                                    | 3         |
| <b>Medžiagos ir reagentai .....</b>                        | <b>4</b>  |
| Pateikiamos medžiagos ir reagentai.....                    | 4         |
| Reagentų laikymas ir naudojimas .....                      | 7         |
| Papildomos reikalingos medžiagos.....                      | 7         |
| <b>Atsargumo priemonės ir naudojimo reikalavimai .....</b> | <b>8</b>  |
| Įspėjimai ir atsargumo priemonės .....                     | 8         |
| Gera laboratorinė praktika.....                            | 8         |
| Užteršimas .....                                           | 9         |
| Sąžiningumo principai.....                                 | 9         |
| Atliekų šalinimas .....                                    | 9         |
| Išliejimas ir valymas .....                                | 9         |
| Mėginių ėmimas, transportavimas ir laikymas .....          | 10        |
| Mėginių rinkimas ir apdorojimas .....                      | 10        |
| Mėginių transportavimas, laikymas ir stabilumas .....      | 10        |
| Apdorotų mėginių laikymas ir stabilumas .....              | 10        |
| <b>Mėginio paruošimo procedūra.....</b>                    | <b>10</b> |
| Rinkinio naudojimas.....                                   | 10        |
| Naudojimo instrukcijos.....                                | 10        |
| DNR koncentracijos nustatymas.....                         | 14        |
| <b>Papildoma informacija .....</b>                         | <b>15</b> |
| Ženkla .....                                               | 15        |
| Techninė parama.....                                       | 16        |
| Gamintojas ir platintojas .....                            | 16        |
| Prekių ženklai ir patentai .....                           | 16        |
| Autorių teisės .....                                       | 16        |
| Šaltinių sąrašas.....                                      | 16        |
| Dokumento leidimas.....                                    | 17        |

## Paskirtis

cobas® DNR mėginio paruošimo rinkinys naudojamas mėginiui rankiniu būdu paruošti siekiant iš formalinu fiksuoto parafine įlydyto naviko audinio (FFPET) mėginių išskirti ląstelių genomo DNR.

## Procedūros principai

### Mėginio paruošimas

FFPET mėginiai apdorojami ir genomo DNR išskiriama naudojant cobas® DNR mėginio paruošimo rinkinį, generinį mėginio paruošimą, grindžiamą nukleorūgšties prijungimu prie stiklo pluoštų. Per inkubaciją FFPET mėginio 5 mikronų ( $\mu\text{m}$ ) nuo parafino atskirta dalis lizuojama aukštoje temperatūroje su proteazės ir chaotropiniu lizės / jungiamuoju buferiniu tirpalu, išgaunančiu nukleino rūgštis ir apsaugančiu išgautą DNR nuo dezoksiribonukleazės. Paskui į lizės mišinį įtraukiamas izopropanolis, tada mišinys yra centrifuguojamas per kolonėlę su stiklo pluošto filtro įdėklų. Centrifuguojant genominė DNR prijungiama prie stiklo pluošto filtro paviršiaus. Pavienės medžiagos – druskos, proteinai ir kitos priemaišos – pašalinamos centrifuguojant. Adsorbuotos nukleino rūgštys yra nuplaunamos ir vėliau eliuojamos vandeniniu tirpalu. Genominės DNR kiekį galima nustatyti spektrofotometriniu būdu ir jį koreguoti iki nustatytos koncentracijos.

# Medžiagos ir reagentai

## Pateikiamos medžiagos ir reagentai

| Rinkinys / kasetės                                                          | Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos                                                                                                                                                                        | Kiekis tyrime | Saugos simbolis ir įspėjimas <sup>a</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-----------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>cobas® DNA Sample Preparation Kit</b><br>24 tyrimų<br>(M/N: 05985536190) | <b>DNA TLB</b><br>(DNR audinių lizės buferinis tirpalas)<br>(M/N: 05517613001)<br>Tris-HCl buferinis tirpalas<br>Kalio chloridas<br>0,04 % EDTA<br>0,1 % ne joninio ploviklio <sup>b</sup><br>0,09 % natrio azidas | 1 × 10 ml     | Nėra                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|                                                                             | <b>PK</b><br>(Proteinazė K)<br>(M/N: 05860695102)<br>Proteinazė K, liofilizuota <sup>b</sup>                                                                                                                       | 1 × 100 mg    |  <p><b>PAVOJINGA</b></p> <p>H315: Dirgina odą.<br/>           H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją.<br/>           H319: Sukelia smarkų akių dirginimą.<br/>           H334: Įkvėpus gali sukelti alerginę reakciją, astmos simptomus arba apsunkinti kvėpavimą.<br/>           H335: Gali dirginti kvėpavimo takus.<br/>           P261: Stengtis neįkvėpti dulkių / dūmų / dujų / rūko / garų / aerosolio.<br/>           P264: Po naudojimo kruopščiai nuplauti odą.<br/>           P280: Mūvėti apsaugines pirštines / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.<br/>           P284: Naudoti kvėpavimo takų apsaugos priemones.<br/>           P304 + P340 + P312: ĮKVĖPUS: išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. pasijutus blogai, skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją.<br/>           P342 + P311: Jeigu pasireiškia respiraciniai simptomai: skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją.<br/>           39450-01-6 Proteinazė, <i>Tritirachium album</i> serinas</p> |

| Rinkiny / kasetės                                                           | Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos                                                                                                                                                                                        | Kiekis tyrime | Saugos simbolis ir įspėjimas <sup>a</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>cobas® DNA Sample Preparation Kit</b><br>24 tyrimų<br>(M/N: 05985536190) | <b>DNA PBB</b><br>(DNR parafiną surišantis buferinis tirpalas)<br>(M/N: 05517621001)<br>Tris-HCl buferinis tirpalas<br>49,6 % guanidino hidrochloridas <sup>b</sup><br>0,05 % karbamidas<br>20 % ne joninio ploviklio <sup>b</sup> | 1 × 10 ml     | <br><b>PAVOJINGA</b><br>H302: Kenksminga prarijus.<br>H315: Dirgina odą.<br>H318: Smarkiai pažeidžia akis.<br>P264: Po naudojimo kruopščiai nuplauti odą.<br>P270: Naudojant šį produktą, nevalgyti, negerti ir nerūkyti.<br>P280: Mūvėti apsaugines pirštines / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.<br>P301 + P312 + P330: PRARIJUS: pasijutus blogai, skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją.<br>Išskalauti burną.<br>P302 + P352: PATEKUS ANT ODOS: plauti dideliu vandens kiekiu ir muilu.<br>P305 + P351 + P338 + P310: PATEKUS Į AKIS: kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją.<br>P501: Turinį / talpyklą išpilti (išmesti) patvirtintoje atliekų šalinimo įmonėje.<br>50-01-1 Guanidino hidrochloridas (1:1)<br>9002-92-0 Polidokanolis |
|                                                                             | <b>WB I</b><br>(DNR plovimo buferinis tirpalas I)<br>(M/N: 05517656001)<br>Tris-HCl buferinis tirpalas<br>64 % guanidino hidrochloridas <sup>b</sup>                                                                               | 1 × 25 ml     | <br><b>ATSARGIAI</b><br>H302 + H332: Kenksminga prarijus arba įkvėpus.<br>H315: Dirgina odą.<br>H319: Sukelia smarkų akių dirginimą.<br>P261: Stengtis neįkvėpti dulkių / dūmų / dujų / rūko / garų / aerozolio.<br>P264: Po naudojimo kruopščiai nuplauti odą.<br>P280: Mūvėti apsaugines pirštines / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.<br>P304 + P340 + P312: ĮKVĖPUS: išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. pasijutus blogai, skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją.<br>P337 + P313: Jei akių dirginimas nepraeina: kreiptis į gydytoją.<br>P501: Turinį / talpyklą išpilti (išmesti) patvirtintoje atliekų šalinimo įmonėje.<br>50-01-1 Guanidinio chloridas                                                                                                                                                                                                                       |

| Rinkiny / kasetės                                                           | Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos                                                                                      | Kiekis tyrime | Saugos simbolis ir įspėjimas <sup>a</sup> |
|-----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------------------------------------------|
| <b>cobas® DNA Sample Preparation Kit</b><br>24 tyrimų<br>(M/N: 05985536190) | <b>WB II</b><br>(DNR plovimo buferinis tirpalas II)<br>(M/N: 05517664001)<br>Tris-HCl buferinis tirpalas<br>Natrio chloridas     | 1 × 12,5 ml   | Nėra                                      |
|                                                                             | <b>DNA EB</b><br>(DNR eliacijos buferinis tirpalas)<br>(M/N: 05517630001)<br>Tris-HCl buferinis tirpalas<br>0,09 % natrio azidas | 1 × 6 ml      | Nėra                                      |
|                                                                             | <b>FT</b><br>(Filtravimo mėgintuvėliai su dangteliais)<br>(M/N: 05089506102)                                                     | 1 × 25 vnt.   | Nėra                                      |
|                                                                             | <b>CT</b><br>(Surinkimo mėgintuvėliai)<br>(M/N: 05880513001)                                                                     | 3 × 25 vnt.   | Nėra                                      |

<sup>a</sup> Produkto saugos žymėjimas atliekamas vadovaujantis ES GHS gairėmis.

<sup>b</sup> Pavoingos medžiagos

## Reagentų laikymas ir naudojimas

| Reagentai                         | Laikymo temperatūra | Laikymo laikas                                                                                                                                                           |
|-----------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| cobas® DNA Sample Preparation Kit | Nuo 15 °C iki 30 °C | Atidarius pakuotę, išlieka stabilūs 8 kartus panaudojus per 90 dienų arba iki nurodytos galiojimo laiko pabaigos, atsižvelgiant į tai, kuris terminas baigiasi anksčiau. |

**Pastaba.** Neužšaldykite reagentų, išskyrus **PK** reagentą.

**Pastaba.** Prieš naudodami apžiūrėkite visus reagentų buteliukus ir įsitikinkite, kad nėra pratekėjimo požymių. Jei pastebėjote kokių nors skysčio pratekėjimo žymių, tos medžiagos tyrimams nenaudokite.

Į **PK** pridėję sterilaus vandens be nukleazės, nesunaudotą ištirpintą **PK** laikykite išpilstytą po 450 µl –20 °C temperatūroje. Ištirpintą **PK** būtina sunaudoti per 90 dienų arba iki tinkamumo laiko pabaigos, atsižvelgiant į tai, kuris terminas yra ankstesnis. Pridėję absoliučiojo etanolio, **WB I** ir **WB II** laikykite 15–30 °C temperatūroje. Šie darbiniai tirpalai išlieka stabilūs 90 dienas arba iki nurodytos galiojimo laiko pabaigos, atsižvelgiant į tai, kuris terminas baigiasi pirma.

## Papildomos reikalingos medžiagos

| Medžiagos                                                                                                     | P/N                |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| Ksilenas (ACS, ≥ 98,5 % ksilenas)                                                                             | Bet kuris tiekėjas |
| Grynasis etanolis (200 stiprumo, skirtas naudoti molekulinėje biologijoje)                                    | Bet kuris tiekėjas |
| Izopropanolis (ACS, ≥ 99,5 %)                                                                                 | Bet kuris tiekėjas |
| Sterilus vanduo be nukleazės (skirtas naudoti molekulinėje biologijoje)                                       | Bet kuris tiekėjas |
| Baliklis                                                                                                      | Bet kuris tiekėjas |
| 70 % etanolis                                                                                                 | Bet kuris tiekėjas |
| Sterilios vienkartinės serologinės 5 ir 25 ml pipetės                                                         | Bet kuris tiekėjas |
| Reguliuojamosios pipetės* (galinčios lašinti 5–1 000 µl)                                                      | Bet kuris tiekėjas |
| Antgaliai be dezoksiribonukleazų, turintys aerozolio barjerus arba teigiamą išstūmimą                         | Bet kuris tiekėjas |
| Pipet-Aid™*                                                                                                   | Bet kuris tiekėjas |
| Stalinė mikrocetrifuga* (galia 20 000 × g)                                                                    | Bet kuris tiekėjas |
| Du sauso kaitinimo blokai, kuriuose mikrocetrifugos mėgintuvėlius galima įkaitinti iki 56 °C ir 90 °C*        | Bet kuris tiekėjas |
| Mikrocetrifugos mėgintuvėliai su užsifiksuojančiu dangteliu (1,5 ml sterilūs, be RNazės / DNazės, PGR klasės) | Bet kuris tiekėjas |
| Mikrocetrifugos mėgintuvėlių laikikliai                                                                       | Bet kuris tiekėjas |
| Spektrofotometras, skirtas DNR koncentracijai matuoti*                                                        | Bet kuris tiekėjas |
| Sūkurinis maišytuvas*                                                                                         | Bet kuris tiekėjas |
| Šaldiklis, tinkamas laikyti nuo –25 °C iki –15 °C temperatūroje                                               | Bet kuris tiekėjas |
| Kalibruoti sauso kaitinimo bloko termometrai*                                                                 | Bet kuris tiekėjas |
| Vandens vonelė*, kurioje palaikoma 37 °C temperatūra                                                          | Bet kuris tiekėjas |
| Vienašmenis peilis arba panašus                                                                               | Bet kuris tiekėjas |
| Vienkartinės pirštinės be talko                                                                               | Bet kuris tiekėjas |

\* Visa įranga turi būti tinkamai naudojama pagal gamintojo instrukcijas.

Norėdami gauti daugiau informacijos apie atskirai parduodamas medžiagas, kreipkitės į vietinį Roche atstovą.

# Atsargumo priemonės ir naudojimo reikalavimai

## Ispėjimai ir atsargumo priemonės

Kaip ir atliekant bet kurio testo procedūrą, kad būtų užtikrintos tinkamos šio rinkinio eksploatacinės savybės, būtina laikytis geros laboratorinės praktikos principų.

- Skirta tik *in vitro* diagnostikai.
- Saugos duomenų lapus (SDS) galite gauti iš vietinės Roche atstovybės.
- Visus mėginius reikia tvarkyti taip, lyg jie būtų užkrečiami, ir taikyti saugias laboratorines procedūras, pvz., aprašytas dokumente „Biosafety in Microbiological Laboratories“ (Biologinė sauga mikrobiologijos laboratorijose)<sup>1</sup> ir CLSI dokumente M29-A4.<sup>2</sup>
- **DNR PBB ir DNR TLB** yra nejoninio ploviklio, kuris dirgina gleivines. Stenkitės, kad medžiagos nepatektų ant odos, į akis ar ant gleivinių.

**Pastaba.** *Parduodamuose skystuose buityje naudojamuose balikliuose yra natrio hipochlorito, kurio koncentracija 5,25 %. Namų ūkyje naudojamą baliklį atskiedus santykiu 1:10 gaunamas 0,5 % natrio hipochlorito tirpalas.*

- Ksilenas yra pavojinga cheminė medžiaga, kurią reikia naudoti traukos spintoje. Išmeskite kaip chemines atliekas pagal vietinius, valstijos ir federalinius reikalavimus.
- Rekomenduojama naudoti vienkartinės pipetės ir pipetės antgalius be sąlyčio su DN-aze.
- Kad mėginys būtų paruoštas tinkamai, atidžiai laikykitės procedūrų ir pateiktų rekomendacijų. Bet koks nukrypimas nuo procedūrų ir rekomendacijų gali turėti įtakos optimaliam tyrimo atlikimui.
- Jeigu naudojant šį tyrimą pasitaikytų rimtų incidentų, praneškite apie juos vietinei kompetentingai įstaigai.

## Gera laboratorinė praktika

- Nepipetuokite burna.
- Nevalgykite, negerkite ir nerūkykite laboratorijos darbo vietose.
- Baigę dirbti su mėginiais ir reagentais, kruopščiai nusiplaukite rankas.
- Dirbdami su reagentais, užsidėkite akinius, apsirenkite specialiais laboratoriniais drabužiais ir mūvėkite vienkartinės pirštines. Saugokitės, kad šių medžiagų nepatektų ant odos, į akis ar ant gleivinių. Jei medžiagų vis dėlto pateko, nedelsdami nuplaukite dideliu kiekiu vandens. Jei nesiimsite veiksmų, gali atsirasti nudegimų. Išpylę kurį nors reagentą, prieš išvalydami vietą sausa šluoste, pirmiausia praskieskite ten užpylę vandens.
- Švariai nuvalykite ir dezinfekuokite visus laboratorijos darbo vietų paviršius, naudodami šviežiai paruoštą 0,5 % natrio hipochlorito tirpalą, sumaišytą su distiliuotu ar dejonizuotu vandeniu (buityje naudojamą baliklį atskiedę santykiu 1:10). Tada nušluostykite paviršių 70 % etanolio.

**Pastaba.** *Parduodamuose skystuose buityje naudojamuose balikliuose yra natrio hipochlorito, kurio koncentracija 5,25 %. Namų ūkyje naudojamą baliklį atskiedus santykiu 1:10 gaunamas 0,5 % natrio hipochlorito tirpalas.*



## Užteršimas

- Kad būtų išvengta taršos, būtina mūvėti pirštines ir tarp mėginių bei cobas® DNR paruošimo rinkinio tvarkymo darbų jas keisti. Dirbdami su mėginiais stenkitės nesuteršti pirštinių.
- Pirštines reikia keisti dažnai, kad sumažėtų užteršimo tikimybė.
- Pirštines reikia pakeisti prieš išeinant iš DNR išskyrimo vietų arba jei įtariamas sąlytis su tirpalais arba mėginiu.
- Neužterškite reagentų mikrobais ir ribonukleazėmis.
- Kiekvienai veiklai skirtos atsargos ir įranga neturi būti naudojamos kitoms veikloms atlikti ar perkeliamos iš vienos vietos į kitą. Pvz., DNR išskyrimui naudojamų pipečių ir priemonių negalima naudoti ruošiant amplifikacijos ir aptikimo reagentus.
- Itin rekomenduojama darbų eiga laboratorijoje būtų vienakryptė: prieš pereinant prie paskesnės veiklos, turi būti užbaigta ankstesnė veikla. Pvz., prieš pradedant amplifikaciją ir patikimą turi būti užbaigtas DNR išskyrimas. DNR išskyrimas turi būti atliekamas kitoje vietoje nei amplifikacija ir aptikimas.

## Sąžiningumo principai

- Nenaudokite rinkinių, jei baigėsi jų galiojimo laikas.
- Nemaišykite skirtingų rinkinių ir partijų reagentų.
- Nenaudokite vienkartinį priemonių, jei baigėsi jų galiojimo laikas.
- Visos vienkartinės priemonės skirtos naudoti tik vieną kartą. Nenaudokite pakartotinai.
- Visa įranga turi būti naudojama pagal gamintojo instrukcijas.

## Atliekų šalinimas

- **DNR EB ir DNR TLB** sudėtyje yra natrio azido. Natrio azidas gali reaguoti su vandentiekio švino ir vario įranga ir sudaryti labai sprogius metalo azidų junginius. Į laboratorijoje esančias kriaukles išpildami tirpalus, kuriuose yra natrio azido, paleiskite stiprią šalto vandens srovę, kad nesusidarytų azidų sancaupų.
- Nepanaudotų reagentų ir jų atliekų šalinimas turi būti atliekamas atsižvelgiant į šalies, federalinius, valstijos ir vietinius reikalavimus.

## Išliejimas ir valymas

- **DNA PBB ir WB I** yra guanidino hidrochlorido. Jei skystis, turintis šio buferinio tirpalo, yra išlietas, valykite tinkamu laboratoriniu valomuoju tirpalu ir vandeniu. Jei išlietame skystyje yra potencialiai užkrėstų medžiagų, vietą pirmiausia nuvalykite laboratoriniu valomuoju tirpalu, o tada 0,5 % natrio hipochlorito tirpalu.

## Mėginių ėmimas, transportavimas ir laikymas

**Pastaba.** Visus mėginius apdorokite kaip galimai užkrečiamas medžiagas.

### Mėginių rinkimas ir apdorojimas

cobas® DNR mėginio paruošimo rinkinys skirtas naudoti su FFPET mėginiais.

### Mėginių transportavimas, laikymas ir stabilumas

FFPET mėginius galima transportuoti temperatūroje nuo 15 °C iki 30 °C. Transportuojant FFPET mėginius reikia laikytis šalies, federalinių, valstijos ir vietinių etiologinių medžiagų transportavimo taisyklių.<sup>3</sup>

Perskaitykite skyrių **Mėginio paėmimas, gabenimas ir laikymas**, kuriame pateikiama testui specifinių naudojimo nurodymų ir laikymo rekomendacijų.

### Apdorotų mėginių laikymas ir stabilumas

Perskaitykite skyrių **Mėginio paėmimas, gabenimas ir laikymas**, kuriame pateikiama testui specifinių naudojimo nurodymų ir laikymo rekomendacijų.

Išskirtą DNR reikia panaudoti rekomenduojamu laikymo laikotarpiu arba prieš baigiantis cobas® DNA Sample Preparation Kit, naudojamo DNR išgauti, galiojimo laikui, atsižvelgiant į tai, kuris terminas baigiasi anksčiau.

Prieš naudodami išskirtą laikomą DNR, impulsais sumaišykite ir centrifuguokite išplovimo mėgintuvėlį, kuriame yra ši DNR.

## Mėginio paruošimo procedūra

### Rinkinio naudojimas

**1 pav.** cobas® darbo su DNR mėginio paruošimo rinkiniu eiga

|   |                                                     |
|---|-----------------------------------------------------|
| 1 | Išimkite mėginius ir reagentus iš jų laikymo vietos |
| 2 | Atskirkite mėginius nuo parafino                    |
| 3 | Atlikite DNR išskyrimą                              |
| 4 | Išplaukite DNR                                      |

### Naudojimo instrukcijos

**Pastaba.** cobas® DNR mėginio paruošimo rinkinys skirtas naudoti su 5 mikronų storio FFPET nuopjovomis.

**Pastaba.** Testams mutacijoms aptikti gali būti taikomi specifiniai reikalavimai dėl naviko sudėties ir poreikio po deparafinavimo procedūros atlikti stambųjį atidalijimą.

**Pastaba.** Sauso kaitinimo blokai, skirti mikrocentrifugos mėgintuvėliams su užsifiksuojančiu dangteliu kaitinti, turi būti įjungti ir nustatyti kaitinti iki 56 °C ir 90 °C.

## Reagentų paruošimas ir laikymas

Prieš naudodami rinkinį pirmą kartą, paruoškite darbinius reagentus, kaip parodyta toliau pateiktoje lentelėje. 5 ml serologine pipete paskirstykite vandenį. 25 ml serologine pipete paskirstykite etanolį. Jei proteinazė K jau ištirpinta ir užšaldyta, atšildykite pakankamą kiekį alikvotinių dalių, kad apdorotumėte mėginius, kurie bus tiriami.

| Reagentai                                | Atkūrimas / paruošimas                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Proteinazė K<br>(PK)                     | Ištirpinkite <b>PK</b> 5 ml serologine pipete įlašindami 4,5 ml sterilaus vandens be nukleazės (PGR klasės) į buteliuką. Sumaišykite apversdami buteliuką 5–10 kartų. Supilkite 450 µl ištirpintos <b>PK</b> alikvotinės dalies į 1,5 ml mikrocentrifugos mėgintuvėlius su užsifiksuojančiu dangteliu ir laikykite –20 °C temperatūroje iki 90 dienų arba iki galiojimo laiko pabaigos, atsižvelgiant į tai, kuris terminas baigiasi anksčiau. Jei <b>PK</b> jau ištirpinta ir užšaldyta, atšildykite pakankamą kiekį alikvotinių dalių, kad apdorotumėte mėginius, kurie bus tiriami (kiekvienam mėginiui reikia 70 µl atkurtos <b>PK</b> ). |
| Plovimo buferinis tirpalas I<br>(WB I)   | Paruoškite darbinį <b>WB I</b> įlašindami 15 ml grynojo etanolio į <b>WB I</b> buteliuką. Sumaišykite apversdami buteliuką 5–10 kartų. Užrašykite ant buteliuko, kad įlašinta etanolio, ir pažymėkite datą. Laikykite darbinį <b>WB I</b> temperatūroje nuo 15 °C iki 30 °C iki 90 dienų arba iki galiojimo laiko pabaigos, atsižvelgiant į tai, kuris terminas baigiasi anksčiau.                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Plovimo buferinis tirpalas II<br>(WB II) | Paruoškite darbinį <b>WB II</b> įlašindami 50 ml grynojo etanolio į <b>WB II</b> buteliuką. Sumaišykite apversdami buteliuką 5–10 kartų. Užrašykite ant buteliuko, kad įlašinta etanolio, ir pažymėkite datą. Laikykite darbinį <b>WB II</b> temperatūroje nuo 15 °C iki 30 °C iki 90 dienų arba iki galiojimo laiko pabaigos, atsižvelgiant į tai, kuris terminas baigiasi anksčiau.                                                                                                                                                                                                                                                         |

Visi temperatūroje nuo 15 °C iki 30 °C laikomi tirpalai turi būti skaidrūs. Jei yra reagento nuosėdų, pakaitinkite tirpalą 37 °C vandens vonelėje, kad ištirptų visos nuosėdos. Nenaudokite, kol neištirpo visos nuosėdos.

## Ant objektinių stiklelių esančių FFPET dalių parafino pašalinimas

**Pastaba.** Ksilenas yra pavojinga cheminė medžiaga. Visus parafino šalinimo veiksmus reikia atlikti traukos spintoje. Žr. skyrių **Perspėjimai ir atsargumo priemonės**.

- Įdėkite objektinį stiklėlį su 5 mikronų FFPET dalimi į konteinerį, kuriame yra pakankamai ksileno, kad padengtų audinį, ir laikykite 5 minutes.
- Perkelkite objektinį stiklėlį į konteinerį, kuriame yra pakankamai grynojo etanolio, kad padengtų audinį, ir laikykite 5 minutes.
- Ištraukite objektinį stiklėlį iš etanolio ir palaikykite, kol oras visiškai išdžiovins audinį (5–10 minučių).
- Jei reikia, atlikite stambųjį atidalijimą.
- Ant kiekvieno mėginio vieno 1,5 ml mikrocentrifugos mėgintuvėlio su užsifiksuojančiu dangteliu nurodykite mėginio identifikavimo informaciją.
- Įlašinkite 180 µl **DNA TLB** į 1,5 ml mikrocentrifugos mėgintuvėlį su užsifiksuojančiu dangteliu.
- Įlašinkite 70 µl ištirpintos **PK** į mikrocentrifugos mėgintuvėlį su užsifiksuojančiu dangteliu, kuriame yra **DNA TLB**.
- Nuimkite audinį nuo objekcinio stiklelio ir įdėkite į mikrocentrifugos mėgintuvėlį su užsifiksuojančiu dangteliu. Pamerkite audinį į **DNA TLB/PK** mišinį.
- Pereikite prie **DNR išskyrimo procedūros** 1 veiksmo.

## Ant objektinių stiklelių nesančių FFPET dalių parafino pašalinimas

**Pastaba.** Ksilenas yra pavojinga cheminė medžiaga. Visus parafino šalinimo veiksmus reikia atlikti traukos spintoje. Žr. skyrių **Perspėjimai ir atsargumo priemonės**.

**Pastaba.** Jei mėginiui reikia atlikti stambųjį atidalijimą, nuopjovą reikia uždėti ant objekcinio stiklelio ir vadovautis procedūra, aprašyta skyriuje **Ant objektinių stiklelių uždėtų FFPET nuopjovų deparafinavimas**.

- Įdėkite vieną 5 mikronų FFPET dalį į 1,5 ml mikrocentrifugos mėgintuvėlį su užsifiksuojančiu dangteliu, ant kurio užrašyta mėginio identifikavimo informacija.
- Įlašinkite 500 µl ksileno į mikrocentrifugos mėgintuvėlį su užsifiksuojančiu dangteliu, kuriame yra FFPET dalis.
- Gera sumaišykite plakdami 10 sekundžių.
- Palaikykite mėgintuvėlį 5 minutes temperatūroje nuo 15 °C iki 30 °C.
- Įlašinkite 500 µl grynojo etanolio ir sumaišykite plakdami 10 sekundžių.
- Palaikykite mėgintuvėlį 5 minutes temperatūroje nuo 15 °C iki 30 °C.
- Centrifuguokite 2 minutes galia nuo 16 000 × g iki 20 000 × g. Išimkite supernatantą nekliudydami nuosėdų. Išmeskite supernatantą kaip chemines atliekas.
- Įlašinkite 1 ml grynojo etanolio ir plakite 10 sekundžių.
- Centrifuguokite 2 minutes galia nuo 16 000 × g iki 20 000 × g. Išimkite supernatantą nekliudydami nuosėdų. Išmeskite supernatantą kaip chemines atliekas.
- jei nuosėdos plaukioja likusiame supernatante, dar kartą centrifuguokite 1 minutę galia nuo 16 000 × g iki 20 000 × g. Pašalinkite likusį supernatantą.
- Džiovinkite atidarytame mėgintuvėlyje esančias audinio nuosėdas 10 minučių 56 °C temperatūros kaitinimo bloke.
- Prieš atlikdami kitą veiksmą įsitikinkite, kad etanolis visiškai išgaravo, o nuosėdos yra sausos.
- Jei reikia, sausas nuosėdas galima laikyti iki 24 valandų temperatūroje nuo 2 °C iki 8 °C.
- Vėl ištirpinkite audinio nuosėdas 180 µl **DNA TLB**.
- Įlašinkite 70 µl ištirpintos **PK**.
- Tęskite atlikdami kitame skyriuje aprašytus 1 žingsnio veiksmus. **DNR išskyrimo procedūra**.

#### DNR išskyrimo procedūra

**Pastaba.** Jei reikia, kartu su mėginiu (-iais) atlikite neigiamos kontrolės testą. Paruoškite neigiamą kontrolę sumaišydami 180 µl **DNA TLB** ir 70 µl **PK** tirpalo 1,5 ml mikrocentrifugos mėgintuvėlyje su užsifiksuojančiu dangteliu, pažymėtame kaip **NEG**. Neigiama kontrolė turi būti apdorojama atliekant tokią pačią procedūrą kaip tiriant mėginius.

- Plakite mėgintuvėlius, kuriuose yra mėginio / **DNA TLB** / **PK** mišinys ir neigiamos kontrolės mišinys (**NEG**) 30 sekundžių.

**Pastaba.** Audinys turi būti visiškai panardintas į **DNA TLB** / **PK** mišinį.

- Įdėkite mėgintuvėlius į iki 56 °C įkaitintą kaitinimo bloką ir inkubuokite 60 minučių.
- Plakite mėgintuvėlius 10 sekundžių.

**Pastaba.** Audinys turi būti visiškai panardintas į **DNA TLB** / **PK** mišinį.

- Įdėkite mėgintuvėlius į iki 90 °C įkaitintą kaitinimo bloką ir inkubuokite 60 minučių.

**Pastaba.** Kol vyksta inkubacija, paruoškite reikalingą kiekį filtravimo mėgintuvėlių (**FT**), kurių dangteliai turi vyrius: sudėkite **FT** ant surinkimo mėgintuvėlių (**CT**) ir pažymėkite kiekvieno **FT** dangtelį atitinkamo mėginio arba kontrolės identifikavimo informacija.

**Pastaba.** Kiekvienam mėginiui reikės 1 **FT**, 3 **CT** ir 1 išplovimo mėgintuvėlio (1,5 ml mikrocentrifugos mėgintuvėlio su užsifiksuojančiu dangteliu).

**Pastaba.** Kol vyksta inkubacija, pažymėkite reikalingą kiekį išplovimo mėgintuvėlių (1,5 ml mikrocentrifugos mėgintuvėlių) atitinkamo mėginio arba kontrolės identifikavimo informacija.

5. Leiskite mėgintuvėliams atvėsti iki temperatūros nuo 15 °C iki 30 °C. Atvėsusius mėgintuvėlius centrifuguokite impulsais, kad surinktumėte skystį nuo dangtelių.
6. Į kiekvieną mėgintuvėlį įlašinkite 200 µl **DNA PBB**. Lašindami sumaišykite 3 kartus.
7. Inkubuokite mėgintuvėlius temperatūroje nuo 15 °C iki 30 °C 10 minučių.
8. Į kiekvieną mėgintuvėlį įlašinkite 100 µl izopropanolio ir sumaišykite lizatą pipetuodami aukštyn žemyn 3 kartus.
9. Perkelti kiekvieną lizatą į atitinkamai pažymėtą **FT / CT** mėgintuvėlį.
10. Centrifuguokite **FT / CT** mėgintuvėlius 8 000 × g galia 1 minutę.
11. Uždėkite kiekvieną **FT** ant naujo **CT**. Išmeskite senus **CT** skysčius kaip chemines atliekas, taip pat tinkamai išmeskite panaudotus **CT**.
12. Įlašinkite 500 µl darbinio **WB I** į kiekvieną **FT**.

**Pastaba.** Darbinio **WB I** paruošimas aprašytas skyriuje **Reagentų paruošimas**.

13. Centrifuguokite **FT / CT** mėgintuvėlius 8 000 × g galia 1 minutę.
14. Išmeskite visų **CT** skysčius kaip chemines atliekas. Uždėkite **FT** ant to paties **CT**.
15. Įlašinkite 500 µl darbinio **WB II** į kiekvieną **FT**.

**Pastaba.** Darbinio **WB II** paruošimas aprašytas skyriuje **Reagentų paruošimas**.

16. Centrifuguokite **FT / CT** mėgintuvėlius 8 000 × g galia 1 minutę.
17. Uždėkite kiekvieną **FT** ant naujo **CT**. Išmeskite senus **CT** skysčius kaip chemines atliekas, taip pat tinkamai išmeskite panaudotus **CT**.
18. Centrifuguokite **FT / CT** mėgintuvėlius galia nuo 16 000 × g iki 20 000 × g 1 minutę, kad išdžiūtų filtrų membranos.
19. Įdėkite kiekvieną **FT** į išplovimo mėgintuvėlį (1,5 ml mikrocentrifugos mėgintuvėlį), pažymėtą mėginio arba kontrolės identifikavimo informacija. Išmeskite panaudotus **CT** skysčius kaip chemines atliekas, taip pat tinkamai išmeskite panaudotus **CT**.
20. Įlašinkite 100 µl **DNA EB** į kiekvieno **FT** membranos centrą neliesdami **FT** membranos.
21. Inkubuokite **FT** su išplovimo mėgintuvėliu temperatūroje nuo 15 °C iki 30 °C 5 minutes.
22. Centrifuguokite **FT** su išplovimo mėgintuvėliu 8 000 × g galia 1 minutę, kad išplovimo produktas susikaupytų išplovimo mėgintuvėlyje. Tinkamai išmeskite panaudotą **FT**.
23. Uždarykite išplovimo mėgintuvėlio dangtelį. Išplovimo mėgintuvėlyje yra DNR.
24. Atlikdami kiekybinio DNR nustatymo testą vadovaukitės skyriumi **DNR kiekybinis nustatymas**.

**Pastaba.** DNR koncentraciją reikia apskaičiuoti iš karto atlikus DNR išskyrimo procedūrą prieš padedant saugoti.

## DNR koncentracijos nustatymas

1. Sumaišykite kiekvieną DNR plakdami 5 sekundes.
2. Įvertinkite DNR koncentraciją spektrofotometru pagal gamintojo protokolą. Naudokite DNA EB kaip nulinės instrumento reikšmės nustatymo priemonę. Būtinai dviejų nuoseklių rodmenų vidurkis.

**Pastaba.** Dviejų matavimų rezultatai gali skirtis  $\pm 10\%$ , jei DNR koncentracija yra  $\geq 20,0$  ng/ $\mu$ l. Jei DNR koncentracija yra  $< 20,0$  ng/ $\mu$ l, dviejų matavimų rezultatai gali skirtis  $\pm 2$  ng/ $\mu$ l. Jei dviejų matavimų rezultatų skirtumas nėra  $\pm 10\%$ , kai DNR koncentracija yra  $\geq 20,0$  ng/ $\mu$ l, arba skirtumas nėra  $\pm 2$  ng/ $\mu$ l, kai DNR koncentracija yra  $< 20,0$  ng/ $\mu$ l, reikia atlikti 2 papildomus matavimus, kurie atitiktų reikalavimus. Tada reikia apskaičiuoti šių dviejų naujų matavimų rezultatų vidurkį.

**Pastaba.** Jeigu reikia atlikti išsamų neigiamos kontrolės testą (NEG), DNR kiekio NEG testui nustatyti nereikia.

**Pastaba.** Saugomą išgautą DNR reikia amplifikuoti per testui specifinėse naudojimo instrukcijose rekomenduojamą saugojimo laikotarpį arba iki DNR išskyrimui naudojamą cobas® DNR mėginio paruošimo rinkinio tinkamumo datos, atsižvelgiant į tai, kuris terminas yra ankstesnis.

**Pastaba.** Testui reikalinga DNR koncentracija nurodyta testui specifinėse naudojimo instrukcijose.

# Papildoma informacija

## Ženkilai

Šie ženklai naudojami Roche PGR diagnostikos gaminiams žymėti.

**1 lentelė.** Simboliai, naudojami Roche PGR diagnostikos gaminiams žymėti

|                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Age/DOB</b> Amžius arba gimimo data                                                                                                                                                                          |  Priemonė nėra skirta tyrimui šalia paciento                                              | <b>QS IU/PCR</b> QS TV PGR reakcijos metu; naudokite QS tarptautinius vienetus (TV) PGR reakcijos metu, kai skaičiuojami rezultatai. |
|  Papildoma programinė įranga                                                                                                   |  Priemonė nėra skirta savarankiškam išsityrimui                                           | <b>SN</b> Serijos numeris                                                                                                            |
| <b>Assigned Range [copies/mL]</b> Priskirta skalė (kop./ml)                                                                                                                                                     |  Platintojas<br>(Pastaba: po šiuo ženklu gali būti nurodyta atitinkama šalis / regionas.) | <b>Site</b> Vieta                                                                                                                    |
| <b>Assigned Range [IU/mL]</b> Priskirta skalė (TV/ml)                                                                                                                                                           |  Nenaudoti pakartotinai                                                                   | <b>Procedure Standard</b> Standartinė procedūra                                                                                      |
| <b>EC REP</b> Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje                                                                                                                                                           |  Moteris                                                                                  | <b>STERILE EO</b> Sterilizuota etileno oksidu                                                                                        |
| <b>BARCODE</b> Brūkšninių kodų duomenų lapas                                                                                                                                                                    |  Skirta tik IVD efektyvumui įvertinti                                                     |  Laikyti tamsoje                                  |
| <b>LOT</b> Partijos kodas                                                                                                                                                                                       | <b>GTIN</b> Visuotinis prekės numeris                                                                                                                                      |  Temperatūros ribojimas                          |
|  Biologinė rizika                                                                                                             |  Importuotojas                                                                           |  Tyrimo nustatymų laikmena                      |
| <b>REF</b> Katalogo numeris                                                                                                                                                                                     | <b>IVD</b> <i>In vitro</i> diagnostikos medicinos priemonė                                                                                                                 |  Šiuo galu į viršų                              |
|  CE atitikties ženklavimas; ši priemonė atitinka <i>in vitro</i> diagnostikos medicinos priemonės CE ženklavimo reikalavimus | <b>LLR</b> Priskirtos skalės apatinė riba                                                                                                                                  | <b>Procedure UltraSensitive</b> Ypač tiksli procedūra                                                                                |
| <b>Collect Date</b> Paėmimo data                                                                                                                                                                                |  Vyras                                                                                  | <b>UDI</b> Unikalus priemonės identifikatorius                                                                                       |
|  Žiūrėti naudojimo instrukcijas                                                                                              |  Gamintojas                                                                             | <b>ULR</b> Priskirtos skalės viršutinė riba                                                                                          |
|  Yra pakankamai <n> tyrimų                                                                                                   | <b>CONTROL -</b> Neigiama kontrolė                                                                                                                                         | <b>Urine Fill Line</b> Šlapimo užpildymo linija                                                                                      |
| <b>CONTENT</b> Rinkinio sudėtis                                                                                                                                                                                 |  Nesterilus                                                                             | <b>Rx Only</b> Taikytina tik JAV: pagal federalinius įstatymus šį prietaisą galima parduoti tik gydytojui arba gydytojo nurodymu.    |
| <b>CONTROL</b> Kontrolinės medžiagos                                                                                                                                                                            |  Paciento vardas, pavardė                                                               |  Galiojimo laikas                               |
|  Pagaminimo data                                                                                                             |  Paciento numeris                                                                       |                                                                                                                                      |
|  Priemonė tyrimui šalia paciento                                                                                             |  Plėšti čia                                                                             |                                                                                                                                      |
|  Priemonė skirta savarankiškai išsityrėti                                                                                    | <b>CONTROL +</b> Teigiama kontrolė                                                                                                                                         |                                                                                                                                      |
|                                                                                                                                                                                                                 | <b>QS copies / PCR</b> QS kopijos PGR reakcijos metu; naudokite QS kopijas PGR reakcijos metu, kai skaičiuojami rezultatai.                                                |                                                                                                                                      |

## Techninė parama

Dėl techninės pagalbos kreipkitės į vietinį filialą:

[https://www.roche.com/about/business/roche\\_worldwide.htm](https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm)

## Gamintojas ir platintojas

### 2 lentelė. Gamintojas ir platintojas



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany  
[www.roche.com](http://www.roche.com)

Pagaminta JAV

Distributed by Roche Diagnostics  
9115 Hague Road  
Indianapolis, IN 46250-0457 USA  
(For Technical Assistance call the  
Roche Response Center  
toll-free: 1-800-526-1247)<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Tik JAV.

## Prekių ženklai ir patentai

COBAS yra Roche prekės ženklas.

Visų kitų produktų pavadinimai ir prekių ženklai yra jų atitinkamų savininkų nuosavybė.

Žr. <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

## Autorių teisės

©2021 Roche Molecular Systems, Inc.



## Šaltinių sąrašas

1. Chosewood LC, Wilson DE. Biosafety and microbiological and biomedical laboratories-Fifth Edition. US Department of Health and Human Services Publication, CDC. 2009;21-1112.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4: Wayne, PA; CLSI, 2014.
3. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 60th Edition. 2019.



## Dokumento leidimas

| Dokumento leidimo informacija |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Doc Rev 2.0<br>12/2021        | <p>Peržiūrėta, kad atitiktų IVDR (<i>in vitro</i> diagnostikos reglamento) reikalavimus.</p> <p>Atnaujintas suderintų ženklų puslapis.</p> <p>Ištrauktas sakinytis apie pagaminimo vietą.</p> <p>Atnaujinti platintojų adresai.</p> <p>Atnaujintas <b>prekių ženklų ir patentų</b> skyrius.</p> <p>Jei turite klausimų, kreipkitės į vietinį Roche atstovą.</p> |

Saugumo ir efektyvumo ataskaitos santrauką galima rasti atvėrus šią nuorodą:  
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>