

Handbuch für den EZ1 DSP DNA Blood Kit



Version 3



Für in-vitro-diagnostische Anwendungen.



62124



1054989DE



QIAGEN GmbH, QIAGEN-Straße 1, 40724 Hilden, DEUTSCHLAND

R5

MAT

1054989DE



QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN ist der führende Anbieter von innovativen Probenvorbereitungs- und Testtechnologien, die die Isolierung und die Analyse von Nukleinsäuren und Proteinen in jedem biologischen Probenmaterial ermöglicht. Unsere fortschrittlichen, qualitativ hochwertigen Produkte und Dienstleistungen stellen den Erfolg von der Probe bis zum Ergebnis sicher.

QIAGEN setzt Standards in:

- der Reinigung von DNA, RNA und Proteinen
- Nukleinsäure- und Protein-Assays
- microRNA-Forschung und RNAi
- der Automatisierung von Probenvorbereitungs- und Testtechnologien

Unsere Mission ist es, Ihnen herausragende Erfolge und bahnbrechend neue Erkenntnisse bei Ihrer Forschung zu ermöglichen. Weitere Informationen finden Sie auf der Website www.qiagen.com.

Inhalt

Kit-Inhalt	4
Symbole	4
Lagerung	5
Vorgesehener Verwendungszweck	6
Anwendungseinschränkungen	6
Technischer Service	6
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	7
Qualitätskontrolle	8
Einleitung	9
Das Prinzip des EZ1 DSP DNA Blood Kits und seine Anwendung	9
Leistungscharakteristik des EZ1 DSP DNA Blood Systems	9
Vom Anwender bereitzustellende Ausrüstung und Reagenzien	25
Wichtige Hinweise	27
Lagerung der Blutproben	27
Präzipitate in den Reagenzienkartuschen (RCB)	27
Hinweise zur Bedienung der EZ1 Geräte	27
Protokoll: Reinigung genomischer DNA aus Vollblut mit dem EZ1 Advanced XL	34
Protokoll: Reinigung genomischer DNA aus Vollblut mit dem EZ1 Advanced (mit V2.0-Karte)	37
Protokoll: Reinigung genomischer DNA aus Vollblut mit dem EZ1 Advanced (mit V1.0-Karte)	41
Protokoll: Reinigung genomischer DNA aus Vollblut mit dem BioRobot EZ1 DSP	44
Hilfe zur Fehlersuche	47
Anhang A: Systemmeldungen im Display	50
Anhang B: Lagerung, Bestimmung von Konzentration, Ausbeute und Reinheit der DNA	73
Anhang C: Probenblatt zur Verwendung mit dem EZ1 DSP DNA Blood System	75
Anhang D: Beispiel einer EZ1 Advanced Reportdatei	76
Bestellinformationen	79

Kit-Inhalt

EZ1 DSP DNA Blood Kit				(48)	
Katalog-Nr.				62124	
Anzahl Präparationen				48	
RCB	Reagenzienkartusche, Blut 350 µl*	REAG	CART	BLOOD	48
DTH	Pipettenspitzen-Halter	DISP	TIP	HOLD	50
DFT	Einmal- Filterpipettenspitzen	DISP	FILT	TIP	50
ST	Probengefäße (2 ml)	SAMP	TUBE		50
ET	Elutionsgefäße (1,5 ml)	ELU	TUBE		50
	Q-Card [†]				1
	Handbuch	H	B		1

* Enthält Natriumazid als Konservierungsmittel. Enthält ein Guanidinsalz. Nicht mit Desinfektionsmitteln in Kontakt bringen, die Chlorbleiche (Natriumhypochlorit, NaOCl) enthalten. Auf Seite 7 finden Sie weitere Sicherheitshinweise.

† Die Bar-Code-Daten auf der Q-Card dienen der Reagenzien-Rückverfolgbarkeit bei der Probenverarbeitung mit dem EZ1 Advanced oder dem EZ1 Advanced XL Gerät.

Symbole

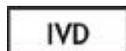


48

Kit enthält Reagenzien für die Verarbeitung von 48 Proben



Verwendbar bis



In-vitro-diagnostisches Medizinprodukt



Katalognummer



Chargennummer



Materialnummer



Komponenten



Anzahl



Volumen



Zulässiger Temperaturbereich



Hersteller i.S.d. Gesetzes



Wichtiger Hinweis



Nur zur Verwendung mit



Enthält



Guanidinisothiocyanat



Guanidinhydrochlorid



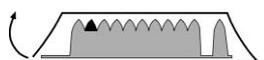
Ethanol



Global Trade Item Number (Globale Artikelnummer)



Sofort nach Anlieferung öffnen; Reagenzienkartuschen (RCB) bei 2–8 °C lagern



Beim Öffnen diese Seite nach unten

Lagerung

Lagern Sie die Reagenzienkartuschen (RCB) im Kühlschrank bei 2–8 °C. Die magnetischen Partikel in den Reagenzienkartuschen (RCB) behalten bei dieser Temperatur ihre Aktivität. Frieren Sie die Reagenzienkartuschen (RCB) nicht ein. Bei sachgemäßer Lagerung (bei 2–8 °C) sind die Reagenzienkartuschen (RCB) mindestens bis zum Haltbarkeitsdatum, das auf dem Etikett und auf der Kit-Verpackung angegeben ist, stabil. Nach Entnahme aus dem Kühlschrank können die Reagenzienkartuschen (RCB) bei Raumtemperatur (15–25 °C) aufbewahrt werden, müssen dann jedoch innerhalb von vier Wochen bzw. bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum (auf Etikett, Q-Card und Kit-Verpackung) – je nachdem, was zuerst eintritt – aufgebraucht werden.

In einem Puffer in den Reagenzienkartuschen (Well in Position 1) kann sich bei längerer Lagerung ein Präzipitat bilden. Die Reagenzienkartusche (RCB) muss Raumtemperatur haben. Prüfen Sie dies bitte vor dem Gebrauch und lösen Sie ggf. ein Präzipitat, wie im Abschnitt „Präzipitate in den Reagenzienkartuschen (RCB)“ auf Seite 27 beschrieben, auf.

Vorgesehener Verwendungszweck

Der EZ1 DSP DNA Blood Kit basiert auf der Magnetic-Partikel-Technologie für die automatisierte Isolierung und Reinigung von humaner DNA aus biologischen Proben.

Das Produkt sollte nur von Sachkundigen, wie z.B. technischen Angestellten oder Ärzten, die in der Anwendung molekularbiologischer Methoden geschult sind, verwendet werden.

Das EZ1 DSP DNA Blood System ist für in-vitro-diagnostischen Gebrauch vorgesehen.

Anwendungseinschränkungen

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Leistungscharakteristik des Systems für jede Methode, die im Labor des Anwenders angewandt wird und die durch die QIAGEN Untersuchungen zur Leistungsevaluierung nicht abgedeckt ist, selbst zu validieren.

Die Systemfunktionalität wurde in Untersuchungen zur Leistungsevaluierung getestet, bei denen humanes Vollblut als Probenmaterial für die Isolierung genomischer DNA verwendet wurde.

Um das Risiko einer negativen Auswirkung auf die Ergebnisse der diagnostischen Tests zu minimieren, sollten bei der Nukleinsäure-Reinigung und in den anschließend durchgeführten Nachweisreaktionen geeignete Kontrollen mitgeführt werden. Für weitere Validierungen werden die Richtlinien der International Conference on Harmonisation of Technical Requirements (ICH) empfohlen (in: *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology*).

Alle mit dem System erhaltenen diagnostischen Ergebnisse, sollten nur im Zusammenhang mit anderen klinischen und/oder labormedizinischen Untersuchungsergebnissen interpretiert werden.

Technischer Service

Der Technische Service von QIAGEN garantiert Qualität auch in der wissenschaftlichen Beratung unserer Kunden. Hier stehen Ihnen erfahrene Wissenschaftler für Ihre Fragen zu Probenvorbereitungs- und Testtechnologien sowie zur Anwendung der QIAGEN Produkte gerne zur Verfügung. Rufen Sie uns an, wenn Sie Fragen zum EZ1 DSP DNA Blood Kit oder zu anderen QIAGEN® Produkten haben.

Die Erfahrungen unserer Kunden sind eine wichtige Informationsquelle bei der Entwicklung und Verbesserung unserer Produkte. Rufen Sie uns an, denn Ihre Vorschläge und Ideen zu unseren Produkten und zu neuen Techniken interessieren uns.

Technische Hinweise und zusätzliche nützliche Informationen finden Sie in unserem Technischen Support Center unter www.qiagen.com/support. Darüber hinaus ist Ihnen das Team vom Technischen Service gerne behilflich, falls Sie Rat oder weitere Informationen zu QIAGEN Produkten benötigen (Kontaktinformationen siehe hintere Umschlagseite oder unter www.qiagen.com).

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Schutzhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern entnehmen (Safety Data Sheets, SDSs). In unserer Online-Sammlung der Materialsicherheits-Datenblätter unter www.qiagen.com/safety finden Sie zu jedem QIAGEN® Kit und zu jeder Kit-Komponente das jeweilige SDS als PDF-Datei, die Sie einsehen und ausdrucken können.



Warnung: GEBEN SIE KEINE Chlorbleiche oder saure Lösungen direkt in den Flüssigabfall, der während der Probenverarbeitung anfällt.

Einige der Pufferlösungen in den Reagenzienkartuschen (RCB) enthalten Guanidinhydrochlorid oder Guanidinisothiocyanat, die hoch reaktive Verbindungen bilden können, wenn sie mit Chlorbleiche zusammengebracht werden.

Wenn eine Flüssigkeit, die einen oder mehrere dieser Puffer enthält, verschüttet wird, reinigen Sie die betroffenen Flächen mit einem geeigneten Labordetergens und Wasser. Wenn Flüssigkeit mit potenziell infektiösen Agenzien in oder auf ein EZ1 Gerät verschüttet wird, desinfizieren Sie das Gerät mit geeigneten Reagenzien, wie im Handbuch zu Ihrem EZ1 Gerät beschrieben.

Beachten Sie bei der Entsorgung von beschädigten oder undichten Reagenzienkartuschen (RCB) die geltenden Sicherheitsbestimmungen. Verwenden Sie keine beschädigten Reagenzienkartuschen oder andere Kit-Komponenten, da dies die Präparationsergebnisse beeinträchtigen könnte.

Der während des EZ1 DSP DNA-Blut-Protokolls anfallende Flüssigabfall ist von QIAGEN nicht auf eventuell noch vorhandenes infektiöses Material getestet worden. Eine Kontamination des Flüssigabfalls mit Resten infektiösen Materials ist äußerst unwahrscheinlich, kann jedoch nicht vollkommen ausgeschlossen werden. Behandeln Sie Reste des Flüssigabfalls daher als potenziell infektiös und werfen Sie ihn gemäß den anzuwendenden Sicherheitsbestimmungen.

Die folgenden Gefahren- und Sicherheitshinweise gelten für einzelne Komponenten des EZ1 DSP DNA Blood Kits:

Reagent Cartridge Blood



Enthält: ethanol; guanidine hydrochloride; guanidine thiocyanate. Gefahr! Kann beim Verschlucken schädlich sein. Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden. Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar. Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase. Inhalt/ Behälter einer anerkannten Abfallentsorgungsanlage zuführen. BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle beschmutzten, getränkten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/ duschen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. Von Hitze/Funken/offener Flamme/heißen Oberflächen fernhalten. Nicht rauchen. Kühl an einem gut belüfteten Ort aufbewahren. Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen.

Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagement-System von QIAGEN wird jede Charge des EZ1 DSP DNA Blood Kits nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

Einleitung

Der EZ1 DSP DNA Blood Kit dient der Reinigung von genomischer DNA aus menschlichem Vollblut. Er basiert auf der Magnetic-Bead-Technologie und liefert eine qualitativ hochwertige DNA, die direkt in anschließenden Applikationen, wie z.B. Amplifikation oder anderen enzymatischen Reaktionen, verwendet werden kann. Alle Arbeitsschritte des Probenverarbeitungs-Protokolls werden vom EZ1 Gerät durchgeführt. Bis zu sechs Proben (beim EZ1 Advanced oder BioRobot® EZ1 DSP) oder bis zu 14 Proben (beim EZ1 Advanced XL) können gleichzeitig in einem Lauf verarbeitet werden.

Bei Verwendung des BioRobot EZ1 DSP oder des EZ1 Advanced mit der Protokollkarte in der Version 1.0 beträgt das Probenvolumen zu Protokollbeginn 350 μ l und die DNA-Elution erfolgt mit 200 μ l Elutionspuffer. Beim EZ1 Advanced XL oder bei Verwendung des EZ1 Advanced mit der Protokollkarte in der Version 2.0 kann zu Protokollbeginn ein Probenvolumen von 200 μ l oder 350 μ l gewählt werden; beim DNA-Elutionsvolumen kann zwischen 50 μ l, 100 μ l und 200 μ l gewählt werden.

Das Prinzip des EZ1 DSP DNA Blood Kits und seine Anwendung

Die dem EZ1 DSP DNA Blood Kit zugrunde liegende Magnetic-Bead-Technologie kombiniert die Schnelligkeit und Effizienz der Silica-basierten DNA-Reinigung mit dem komfortablen Handling von magnetischen Partikeln (*Beads*; siehe Flussdiagramm auf Seite 10). Die Isolierung der DNA aus den Lysaten erfolgt in einem Schritt aufgrund ihrer Bindung an die Silica-Oberfläche der Partikel in Gegenwart von chaotropen Salzen. Die Partikel werden dann mithilfe eines Magneten vom Rest des Lysats getrennt. Die DNA wird anschließend in effizienten Waschschrinen gereinigt und mit Elutionspuffer eluiert.

Leistungscharakteristik des EZ1 DSP DNA Blood Systems

Kompatibilität des Systems mit verschiedenen Blutentnahmetechniken

Verschiedene Blutentnahmeröhrchen (auch Primärröhrchen genannt) mit unterschiedlichen Antikoagulanzen können zur Entnahme der Blutproben für das EZ1 DSP DNA-Blut-Protokoll eingesetzt werden. Tabelle 1 (siehe Seite 11) gibt einen Überblick über die Blutentnahmeröhrchen, die bei der Evaluierung des Systems verwendet wurden. Die Auswahl dieser Röhrchen beinhaltet mehrere verschiedene Antikoagulanzen und Hersteller von Blutentnahmeröhrchen. Röhrchen anderer Hersteller können ebenfalls verwendet werden.

Die durchschnittliche relative DNA-Ausbeute aus den Blutproben bei Verwendung der verschiedenen Primärröhrchen ist in Abbildung 1 (siehe Seite 12) dargestellt.

Das EZ1 DSP DNA-Blut-Protokoll

Vollblut-Proben



Lyse

Zugabe von magnetischen
Partikeln zu den Proben

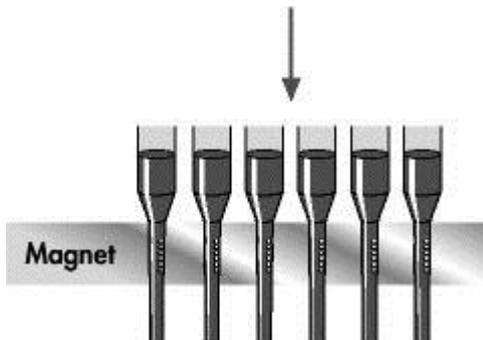


Bindung der DNA an die
magnetischen Partikel



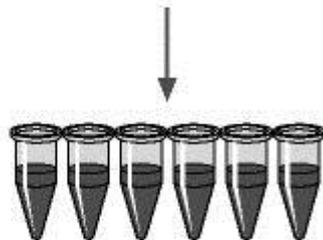
magnetische
Trennung

Waschschritte



magnetische
Trennung

Elution



Reine, qualitativ
hochwertige DNA

Tabelle 1. Blutentnahmeröhrchen, die mit dem EZ1 DSP DNA Blood System getestet wurden

Röhrchen	Abkürzung	Hersteller	Kat.-Nr.*	Entnommenes Volumen, nominal (ml)
BD Vacutainer® 9NC	BD 9NC	Becton Dickinson	366007	9
BD Vacutainer K3E	BD K3E	Becton Dickinson	368457	10
BD Vacutainer K2E	BD K2E	Becton Dickinson	367864	6
Monovette® EDTA	EDTA	Sarstedt	21.066.001	9
Monovette LH	LH	Sarstedt	21.065.001	9
Monovette CDPA1	CPDA1	Sarstedt	11.610.001	8.5
Vacurette® K3E	K3E	Greiner Bio-One	455036	9
Vacurette 9NC	V 9NC	Greiner Bio-One	454382	9

* Katalognummern könnten sich geändert haben; fragen Sie ggf. beim Hersteller oder Ihrem Lieferanten nach.

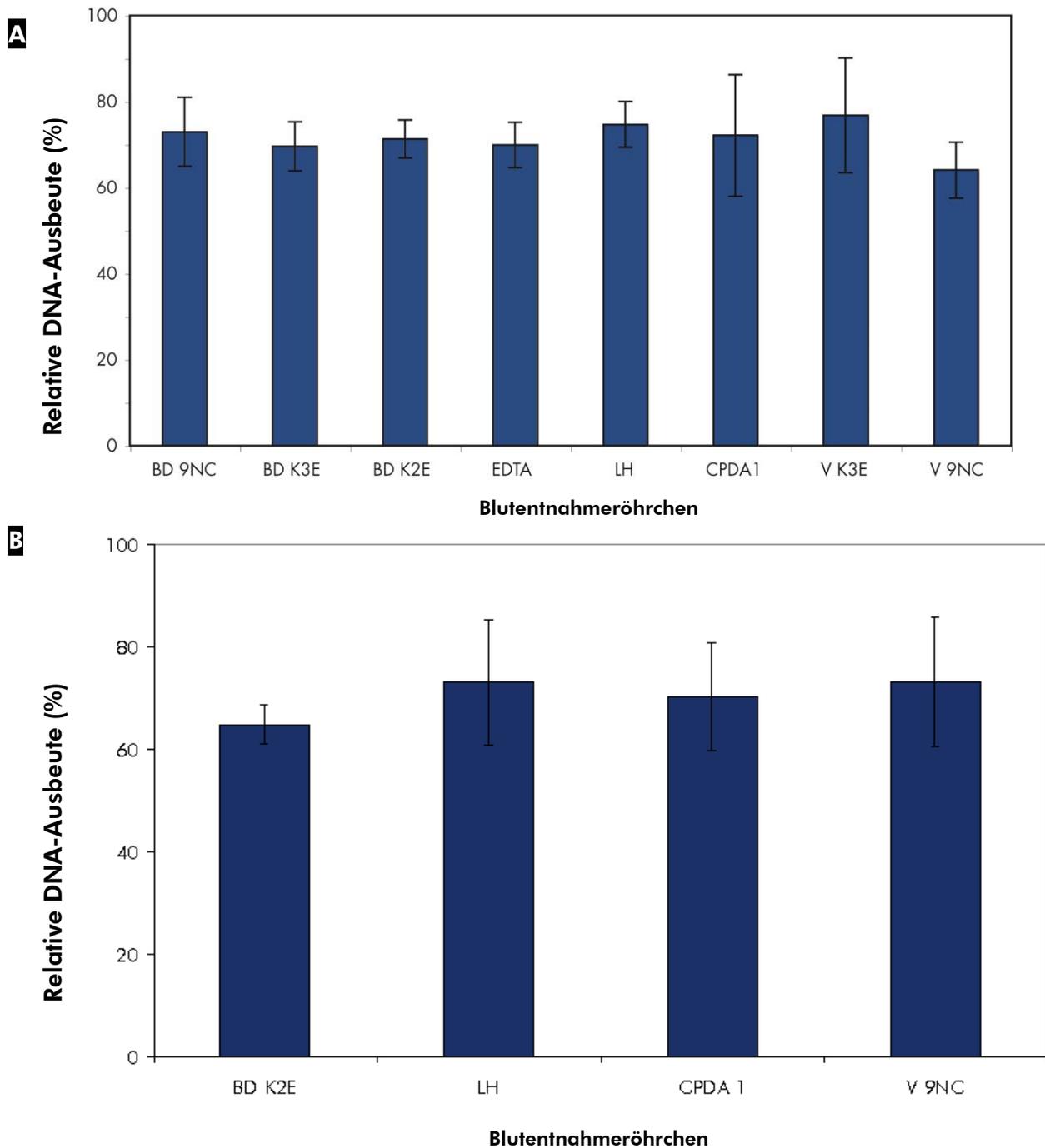


Abbildung 1. Kompatibilität des EZ1 DSP DNA Blood Systems mit verschiedenen Blutentnahmeröhrchen und Antikoagulanzen. Vollblut-Proben wurden mit verschiedenen Röhrchen von gesunden Spendern (jeweils drei Proben pro Spender und Röhrchen) entnommen. Die verwendeten Röhrchen sind in Tabelle 1 (siehe Seite 11) wiedergegeben.

A Entnahme von Vollblut-Proben bei sechs Spendern mit acht verschiedenen Röhrchen. Die genomische DNA wurde aus 350- μ l-Proben mit einem Elutionsvolumen von 200 μ l gereinigt.

B Entnahme von Vollblut-Proben bei vier Spendern mit vier verschiedenen Röhrchen. Die genomische DNA wurde aus 200- μ l-Proben mit dem EZ1 DSP DNA Blood Kit und dem EZ1 Advanced XL gereinigt; Elutionsvolumen: 200 μ l. Die theoretisch erwartete DNA-Ausbeute für jeden Spender und jedes Röhrchen wurde anhand der Leukozytenzahl bestimmt. Die Balken geben die mittlere relative DNA-Ausbeute (bezogen auf die theoretische Ausbeute und mit Standardabweichung) wieder.

Einfrieren und Auftauen der Proben

FrISChe oder gefrorene menschliche Vollblut-Proben können verwendet werden (siehe „Lagerung der Blutproben“ auf Seite 27). Die Auswirkung des Einfrierens und Wiederauftauens von Blutproben auf die DNA-Reinigung mit dem EZ1 DSP DNA Blood System wurde experimentell untersucht (siehe Abbildung 2).

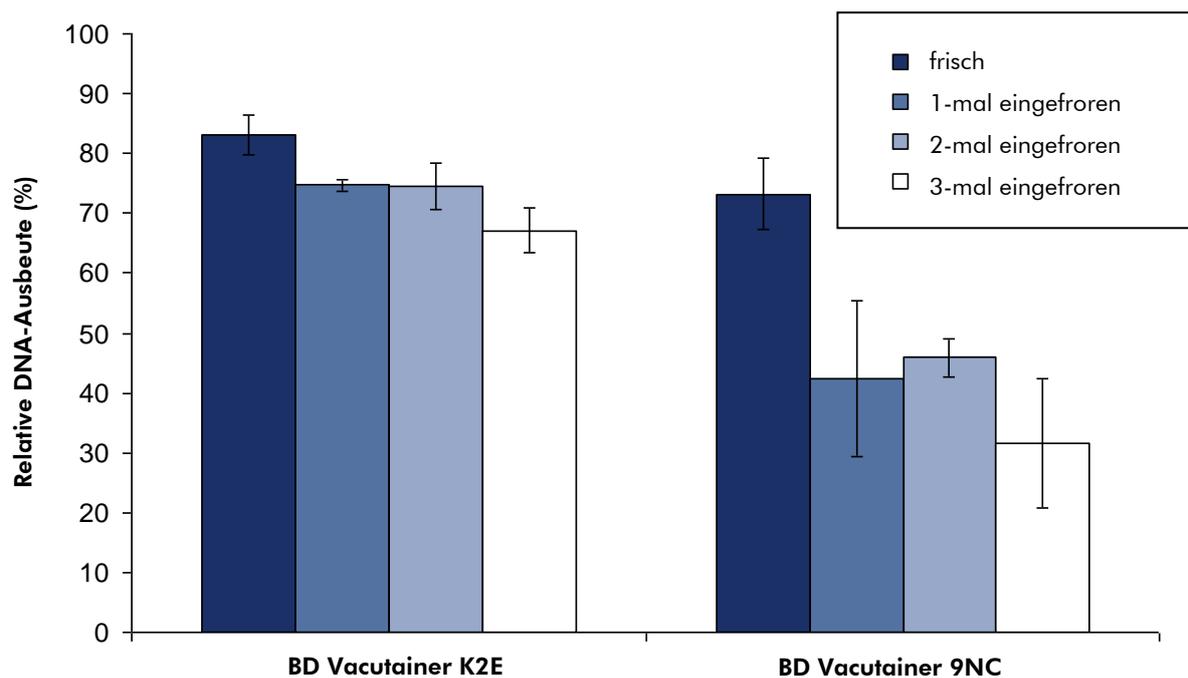


Abbildung 2. Einfluss des wiederholten Einfrierens und Wiederauftauens auf die DNA-Ausbeute. Von drei gesunden Spendern wurden Vollblut-Proben mit den genannten Röhrchen genommen (jeweils sechs Proben pro Spender und Röhrchen). Die verwendeten Röhrchen sind in Tabelle 1 wiedergegeben. Die genomische DNA wurde aus 350- μ l-Proben mit dem EZ1 DSP DNA Blood System gereinigt; dargestellt sind die Mittelwerte der relativen DNA-Ausbeute (**frisch**) für jeden Spender und jedes Röhrchen. Die Blutröhrchen wurden 3-mal eingefroren und wiederaufgetaut. Nach jedem Wiederauftauen wurde aus einem Teil der Probe die genomische DNA gereinigt und die relative DNA-Ausbeute bestimmt. Zum Einfrieren von Blutproben werden Blutentnahmeröhrchen mit EDTA als Antikoagulans empfohlen.

Ausbeute an gereinigter DNA

Für die Reinigung genomischer DNA wurde ein Volumen von 350 μ l Blutprobe von gesunden Spendern verwendet. Die daraus nach dem EZ1 DSP DNA-Blut-Protokoll gereinigte Menge an DNA hängt vom Gehalt an Leukozyten in der Blutprobe ab; außerdem variiert die Ausbeute von Spender zu Spender (siehe Abbildung 3).

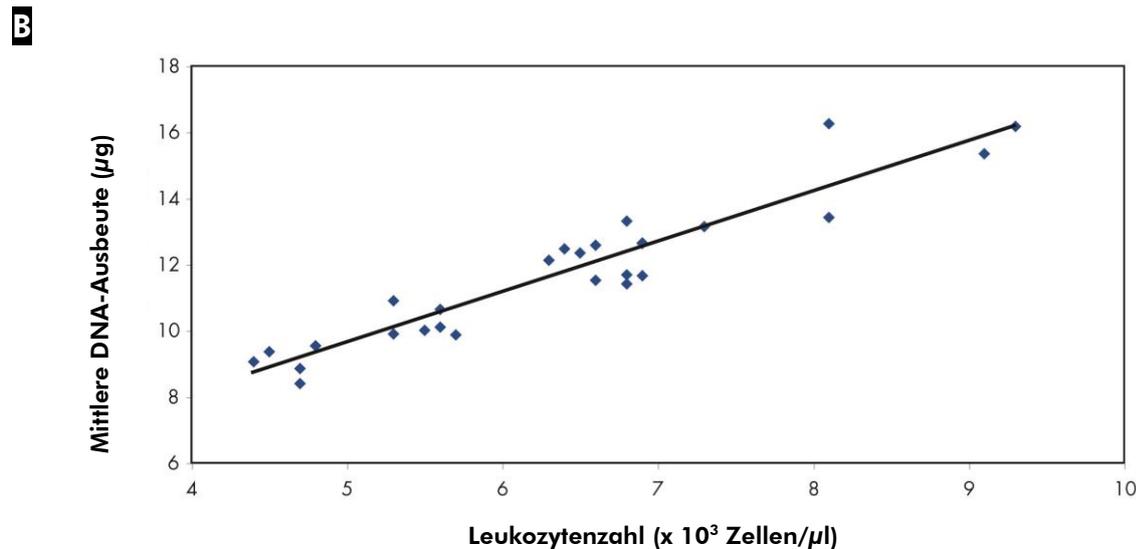
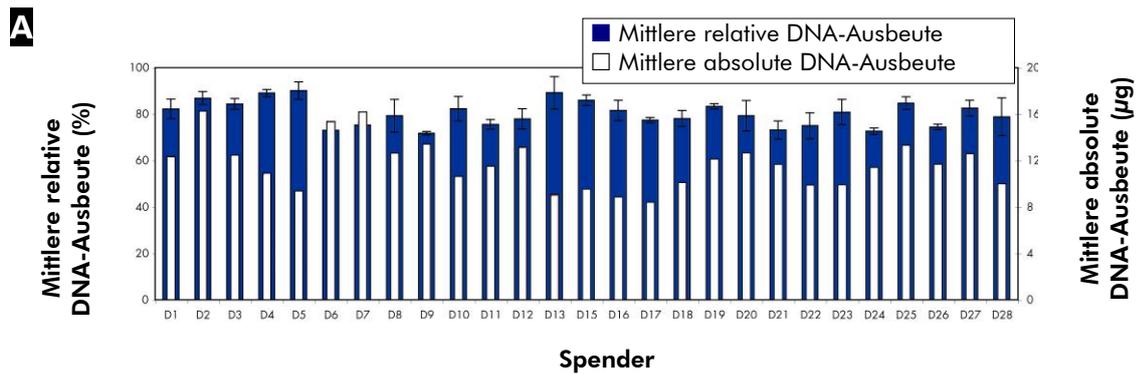


Abbildung 3. Durchschnittliche absolute und relative DNA-Ausbeute bei verschiedenen Blutspendern. Dreifachbestimmung von Vollblut-Proben, die bei 27 Spendern entnommen wurden. Die Reinigung der genomischen DNA erfolgte jeweils aus 350 µl Probenvolumen mit dem EZ1 DSP DNA Blood System. **A** Die theoretische DNA-Ausbeute wurde anhand der Leukozytenzahl berechnet. Darstellung der mittleren absoluten und relativen (bezogen auf die berechnete theoretische) DNA-Ausbeute für jeden Blutspender. **B** Darstellung der mittleren absoluten Ausbeute für jeden Blutspender bezogen auf die Leukozytenzahl.

Konzentration der gereinigten DNA bei unterschiedlichen Elutionsvolumina

Bei gesunden Spendern wurden Blutproben von 250 µl und 350 µl entnommen und daraus nach dem EZ1 DSP DNA Blut-Protokoll mit dem EZ1 Advanced XL die genomische DNA bei drei verschiedenen Elutionsvolumina isoliert (siehe Abbildung 4).

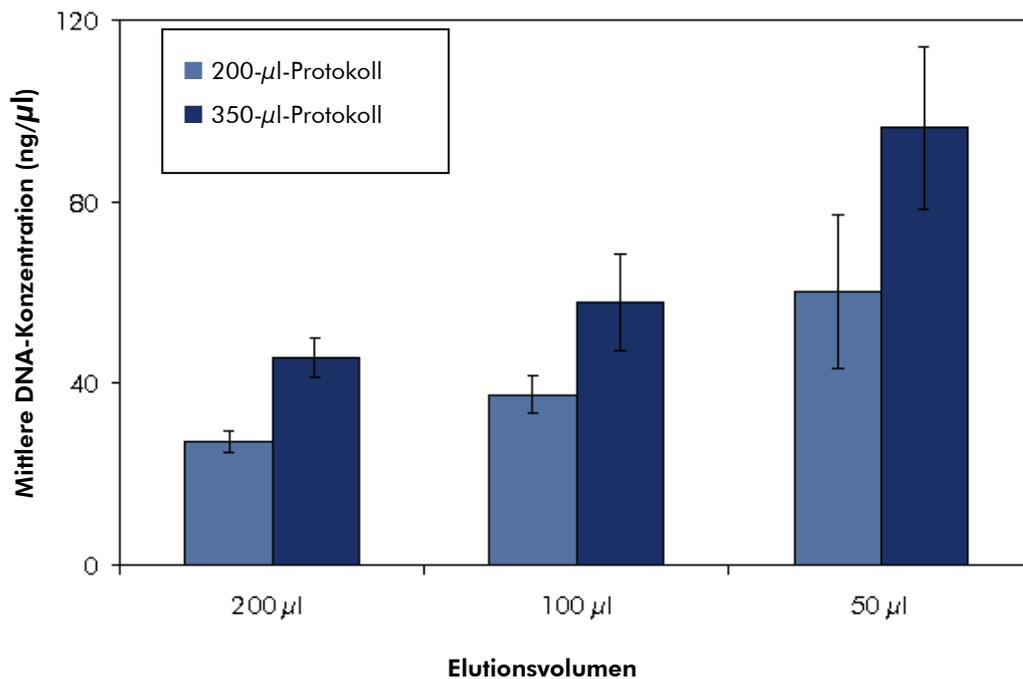


Abbildung 4. Mittlere DNA-Konzentration, die bei verschiedenen Elutionsvolumina erhalten wird. Dreifachbestimmung von Vollblut-Proben, die bei drei Spendern entnommen wurden. Die genomische DNA wurde aus jeder Probe unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood-Systems mit dem EZ1 Advanced XL aus 200 μl und 350 μl gereinigt und mit 200 μl , 100 μl und 50 μl eluiert (jeweils Dreifachbestimmung). Abgebildet ist die mittlere DNA-Konzentration für beide Ausgangsvolumina und alle Elutionsvolumina.

ⓘ Aufgrund des kleinen Puffervolumens und der Erwärmung des Elutionspuffers während der Probenverarbeitung kann es sein, dass bei Elution mit 50 μl das tatsächliche Endvolumen kleiner als 50 μl Eluat ist.

Elution gereinigter genomischer DNA

Zum Eluieren der genomischen DNA wird ein Elutionspuffer mit niedriger Salzkonzentration verwendet. Die eluierte DNA kann direkt in anschließend durchgeführten in-vitro-diagnostischen Assays eingesetzt werden, z.B. unter Verwendung der CE-IvD-zertifizierten *artus*[®] PCR Kits.

Für die DNA-Reinigung mit dem EZ1 DSP DNA Blood System wurden von 30 zufällig ausgewählten Blutspendern Vollblut-Proben genommen und die DNA jeweils aus 350- μl -Proben gereinigt und mit 200 μl eluiert. Zum Nachweis der klinisch relevanten Varianten des Methylentetrahydrofolat-Reduktase-(MTHFR-) und des Thiopurin-S-methyltransferase-(TPMT-)Gens wurden der *artus* MTHFR LC PCR Kit und der *artus* TPMT LC PCR Kit verwendet. Die Proben wurden mit einem LightCycler[®] Real-Time-PCR-Gerät analysiert. Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen 2 und 3 (beginnend auf Seite 16 bzw. 19)

zusammengefasst; die Abbildungen 5 und 6 (siehe Seite 18 bzw. 19) geben die Schmelzkurvenanalyse und die prozentuale Verteilung der MTHFR-Genvarianten wieder.

Tabelle 2. Mit dem *artus* MTHFR LC PCR Kit nachgewiesene Polymorphismen der Nukleotide 677 und 1298 des MTHFR-Gens

Proben-nummer	Nukleotid 677	Nukleotid 1298	Genotyp
1	heterozygot, var	homozygot, wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
2	homozygot, wt	homozygot, wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298
3	homozygot, wt	heterozygot, var	wt677/wt677 wt1298/var1298
4	homozygot, var	homozygot, wt	var677/var677 wt1298/wt1298
5	homozygot, wt	heterozygot, var	wt677/wt677 wt1298/var1298
6	homozygot, wt	heterozygot, var	wt677/wt677 wt1298/var1298
7	heterozygot, var	homozygot, wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
8	homozygot, wt	homozygot, wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298
9	homozygot, wt	heterozygot, var	wt677/wt677 wt1298/var1298
10	heterozygot, var	heterozygot, var	wt677/var677 wt1298/var1298
11	homozygot, wt	heterozygot, var	wt677/wt677 wt1298/var1298
12	homozygot, wt	homozygot, wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298
13	homozygot, wt	homozygot, wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298

var: Allel der Variante in der angegebenen Position des MTHFR-Gens.

wt: Wildtyp-Allel in der angegebenen Position des MTHFR-Gens.

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 2. Fortsetzung

Proben-nummer	Nukleotid 677	Nukleotid 1298	Genotyp
14	heterozygot, var	homozygot, wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
15	heterozygot, var	homozygot, wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
16	homozygot, wt	heterozygot, var	wt677/wt677 wt1298/var1298
17	homozygot, var	homozygot, wt	var677/var677 wt1298/wt1298
18	heterozygot, var	homozygot, wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
19	homozygot, wt	heterozygot, var	wt677/wt677 wt1298/var1298
20	homozygot, wt	heterozygot, var	wt677/wt677 wt1298/var1298
21	homozygot, wt	homozygot, var	wt677/wt677 var1298/var1298
22	heterozygot, var	homozygot, wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
23	heterozygot, var	heterozygot, var	wt677/var677 wt1298/var1298
24	heterozygot, var	homozygot, wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
25	homozygot, wt	heterozygot, var	wt677/wt677 wt1298/var1298
26	homozygot, wt	homozygot, var	wt677/wt677 var1298/var1298
27	homozygot, wt	heterozygot, var	wt677/wt677 wt1298/var1298

var: Allel der Variante in der angegebenen Position des MTHFR-Gens.

wt: Wildtyp-Allel in der angegebenen Position des MTHFR-Gens.

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 2. Fortsetzung

Probennummer	Nukleotid 677	Nukleotid 1298	Genotyp
28	heterozygot, var	heterozygot, var	wt677/var677 wt1298/var1298
29	heterozygot, var	homozygot, wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
30	homozygot, var	homozygot, wt	var677/var677 wt1298/wt1298

var: Allel der Variante in der angegebenen Position des MTHFR-Gens.

wt: Wildtyp-Allel in der angegebenen Position des MTHFR-Gens.

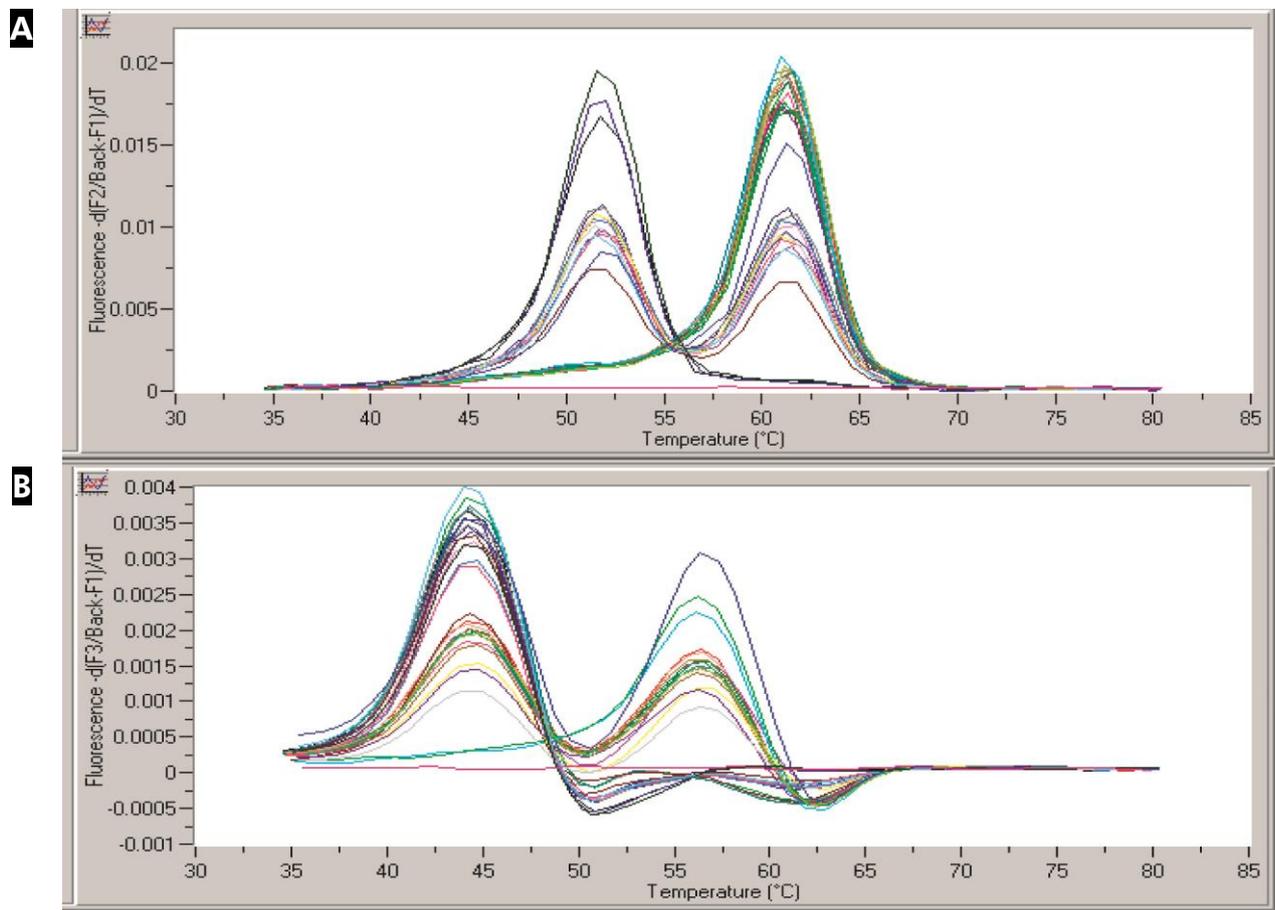


Abbildung 5. Schmelzkurvenanalyse der Amplifikationsprodukte des MTHFR-Gens mit Nukleotid-Variationen in Position 677 und 1298. Die DNA wurde aus Vollblut-Proben von 30 Spendern mit dem EZ1 DSP DNA Blut-System gereinigt. Die Eluate wurden unter Verwendung des CE-IVD-zertifizierten *artus* MTHFR LC PCR Kits inklusive Schmelzkurvenanalyse auf einem LightCycler Real-Time-Thermocycler analysiert. **A** Analyse der Variante mit verändertem Nukleotid 677. **B** Analyse der Variante mit verändertem Nukleotid 1298.

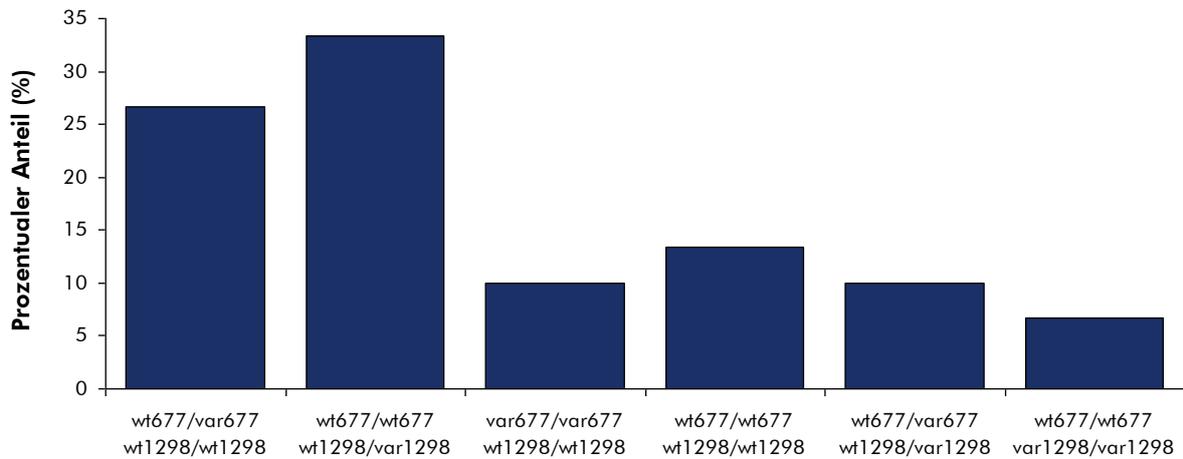


Abbildung 6. Verteilung der verschiedenen für das MTHFR-Gen detektierten Genotypen. Die Daten aus Tabelle 2 und Abbildung 5 wurden grafisch zusammengefasst; die Balken geben den prozentualen Anteil jedes detektierten Genotyps wieder.

Tabelle 3. Mit dem artus TPMT LC PCR Kit nachgewiesene Polymorphismen des TPMT-Gens

Probennummer	TPMT-Genotyp
1	TPMT*1/*1
2	TPMT*1/*1
3	TPMT*1/*1
4	TPMT*1/*1
5	TPMT*1/*1
6	TPMT*1/*3A oder TPMT*3C/*3B
7	TPMT*1/*1
8	TPMT*1/*3A oder TPMT*3C/*3B
9	TPMT*1/*1
10	TPMT*1/*3A oder TPMT*3C/*3B
11	TPMT*1/*1
12	TPMT*1/*1
13	TPMT*1/*1
14	TPMT*1/*1

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 3. Fortsetzung

Probennummer	TPMT-Genotyp
15	TPMT*1/*1
16	TPMT*1/*1
17	TPMT*1/*3A oder TPMT*3C/*3B
18	TPMT*1/*1
19	TPMT*1/*1
20	TPMT*1/*1
21	TPMT*1/*1
22	TPMT*1/*1
23	TPMT*1/*1
24	TPMT*1/*1
25	TPMT*1/*1
26	TPMT*1/*1
27	TPMT*1/*1
28	TPMT*1/*1
29	TPMT*1/*1
30	TPMT*1/*1

Inhibitionstest

Der Einfluss des Eluatvolumens, das in einer PCR eingesetzt wird, auf die Funktionalität der PCR wurde experimentell untersucht (siehe Abbildung 7).

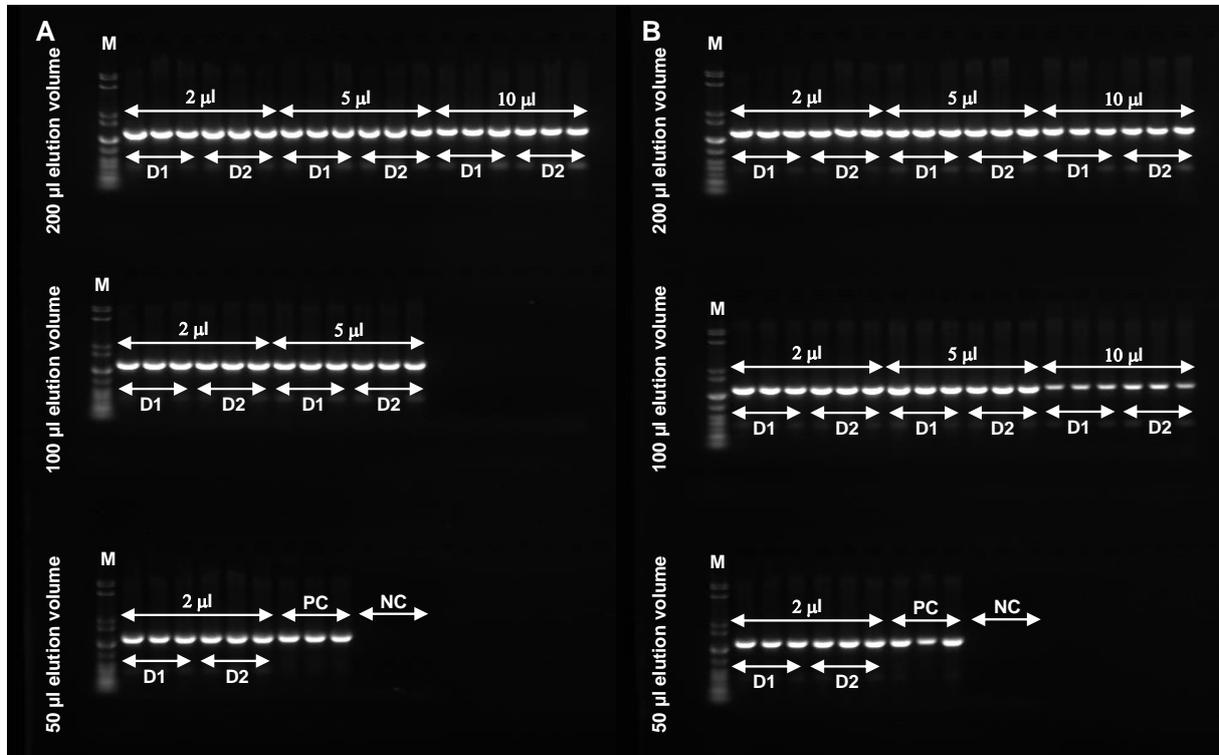


Abbildung 7. Einfluss des in einer PCR eingesetzten Eluatvolumens auf die Funktionalität der PCR. Von zwei gesunden Spendern (**D1**, **D2**) wurden Blutproben mit Blutentnahmeröhrchen des Typs BD K2E entnommen. Die genomische DNA wurde mit dem EZ1 DSP DNA Blood-System aus 350- μ l- (**A**) und 200- μ l-Aliquots (**B**) gereinigt (jeweils Dreifachbestimmung). Die DNA wurde mit 200 μ l, 100 μ l und 50 μ l eluiert ("elution volume"). Das angegebene Volumen Eluat wurde in einer 50- μ l-PCR eingesetzt. Die verwendeten Primer waren für ein 1100 bp großes humanes Single-Copy-Genfragment spezifisch. **PC**: Positivkontrolle. **NC**: Negativkontrolle. **M**: niedermolekulare DNA-Leiter. (Zu beachten ist, dass die Verwendung großer Volumina mit hoher DNA-Konzentration zu einer Überladung der PCR führen kann, wie im Beispiel an den schwächeren Banden bei 10 μ l eines 100- μ l-Eluats in der PCR zu erkennen ist.)

Präzision

Die DNA-Ausbeuten (aus jeweils 350 μl humanem Vollblut) verschiedener Protokollläufe unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood Kits mit dem EZ1 Advanced oder des EZ1 Advanced XL wurden miteinander verglichen. Die Daten zur Lauf-zu-Lauf-Präzision (DNA-Ausbeuten mit Standardabweichung) sind in Abbildung 8 wiedergegeben.

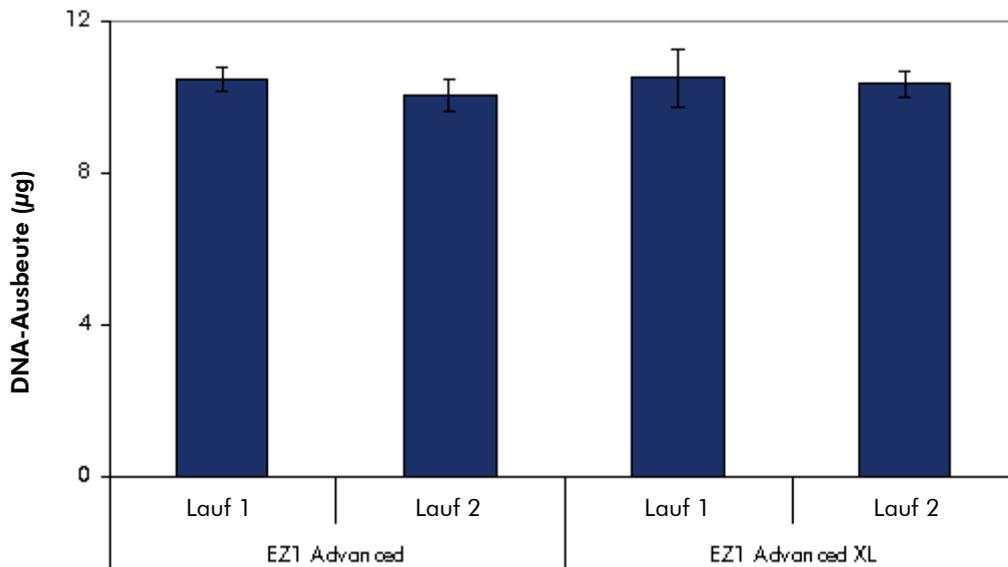


Abbildung 8. Präzision innerhalb eines Laufs und Lauf-zu-Lauf-Präzision bei der DNA-Reinigung mit dem EZ1 DSP DNA Blood System. Von einem gesunden Spender wurden Blutproben mit Blutentnahmeröhrchen des Typs BD K2E genommen und vor Versuchsbeginn gepoolt. Die genomische DNA wurde aus zwölf 350- μl -Aliquots in zwei Läufen à sechs Proben (**Lauf 1**, **Lauf 2**) mit dem EZ1 Advanced bzw. aus 28 350- μl -Aliquots in zwei Läufen à 14 Proben (**Lauf 1**, **Lauf 2**) mit dem EZ1 Advanced XL unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood Kits verwendet. Die mittlere Gesamt-DNA-Ausbeute mit Standardabweichung für jeden Lauf ist wiedergegeben. Die Daten zur Präzision innerhalb eines Laufs waren 2,90 % (Lauf 1; EZ1 Advanced), 3,80 % (Lauf 2; EZ1 Advanced), 7,17 % (Lauf 1; EZ1 Advanced XL) und 3,45 % (Lauf 2; EZ1 Advanced XL); die Gesamtpräzision betrug 5,17 %.

DNA-Stabilität im Eluat

Die genomische DNA in den EZ1-Eluaten ist bei Lagerung bei 5 °C für 24 Monate und bei -20 °C oder -80 °C für 36 Monate stabil.

Ausschluss von Kreuzkontamination

Um das Risiko einer Kreuzkontamination während einer Präparation und zwischen zwei Präparationen nach dem EZ1 DSP DNA-Blut-Protokoll abschätzen zu können, wurden mit dem EZ1 DSP DNA Blood Kit zwölf Protokolldurchläufe auf dem EZ1 Advanced (mit Protokollkarte V2.0; 350 µl Probenvolumen und 200 µl Elutionsvolumen) und neun Läufe auf dem EZ1 Advanced XL (200 µl Probenvolumen und 200 µl Elutionsvolumen) durchgeführt. Um eine eventuelle Kreuzkontamination zwischen zwei Proben nachzuweisen, wurden die Läufe mit männlichen (positiven) und weiblichen (negativen) Blutproben in alternierenden Positionen, wie in Tabelle 4 und 5 gezeigt, durchgeführt. In jedem dritten Lauf wurden nur weibliche Blutproben eingesetzt. Alle Eluate wurden mithilfe des QIAGEN QuantiTect® Probe PCR Kits auf die Amplifikation eines 78 bp großen Fragments des für das Y-Chromosom spezifischen Single-Copy-Gens SRY getestet.

Tabelle 4. Probenanordnung im Test auf Kreuzkontamination mit dem EZ1 Advanced und C_T-Werte bei den positiven (männlichen) Proben

Lauf	Position					
	1	2	3	4	5	6
1	23,37	W	23,14	W	23,22	W
2	W	23,41	W	23,15	W	23,44
3	W	W	W	W	W	W
4	23,53	W	23,27	W	23,39	W
5	W	23,28	W	23,39	W	23,46
6	W	W	W	W	W	W
7	23,14	W	23,50	W	23,17	W
8	W	23,21	W	23,46	W	23,44
9	W	W	W	W	W	W
10	23,29	W	23,45	W	23,47	W
11	W	23,53	W	23,39	W	23,42
12	W	W	W	W	W	W

W: weibliche (negative) Proben.

Zahlen: C_T-Werte der männlichen (positiven) Proben.

Tabelle 5. Probenanordnung im Test auf Kreuzkontamination mit dem EZ1 Advanced XL und C_T-Werte bei den positiven (männlichen) Proben

Lauf	Position						
	1	2	3	4	5	6	7
1	24,27	W	24,13	W	24,12	W	24,22
2	W	23,92	W	24,12	W	23,85	W
3	W	W	W	W	W	W	W
4	24,02	W	23,98	W	24,31	W	24,35
5	W	24,74	W	24,56	W	24,62	W
6	W	W	W	W	W	W	W
7	24,48	W	24,64	W	24,49	W	24,52
8	W	24,55	W	24,40	W	24,52	W
9	W	24,80	W	24,70	W	24,68	W
Position							
	8	9	10	11	12	13	14
1	W	23,99	W	24,16	W	24,18	W
2	24,06	W	24,11	W	23,94	W	24,02
3	W	W	W	W	W	W	W
4	W	24,22	W	24,30	W	24,10	W
5	24,64	W	24,28	W	24,59	W	24,53
6	W	W	W	W	W	W	W
7	W	24,62	W	24,41	W	24,66	W
8	24,37	W	24,46	W	24,58	W	24,46
9	24,74	W	24,52	W	24,80	W	24,67

W: weibliche (negative) Proben.

Zahlen: C_T-Werte der männlichen (positiven) Proben.

Alle männlichen Blutproben ergaben in der PCR ein positives Ergebnis (C_T-Werte siehe Tabelle 4 bzw. Tabelle 5) und alle weiblichen Blutproben waren negativ. Diese Experimente zeigen, dass es unter den Bedingungen des EZ1 DSP DNA-Blut-Protokolls nicht zu einer Kreuzkontamination zwischen den

Proben eines Laufs und auch nicht zu einer Verschleppung zwischen zwei Läufen kommt.

Vom Anwender bereitzustellende Ausrüstung und Reagenzien

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Schutzhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheits-Datenblättern (Safety Data Sheets, SDSs) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

Für alle Protokolle

- Pipetten* und sterile, RNase-freie Pipettenspitzen
- weiche Papiertücher
- Laborwasser
- Ethanol (70 %)
- Optional: Schüttelinkubator* (falls sich am Boden der Wells in den Reagenzienkartuschen [RCB] ein Präzipitat befindet)
- Optional: Mikrozentrifuge* (falls Magnet-Partikel aus den Eluatn entfernt werden müssen)

Für Protokolle auf dem BioRobot EZ1

- BioRobot EZ1 DSP* (eingestellt)
- EZ1 DSP DNA Blood Card (Kat.-Nr. 9017713)

Für Protokolle auf dem EZ1 Advanced

- EZ1 Advanced* (eingestellt)
- EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card (Kat.-Nr. 9018305)

Für Protokolle auf dem EZ1 Advanced XL

- EZ1 Advanced XL* (Kat.-Nr. 9001492)
- EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card (Kat.-Nr. 9018702)

* Stellen Sie sicher, dass die Geräte regelmäßig und gemäß den Herstellerangaben überprüft, gewartet und kalibriert werden.

Für Protokolle auf dem EZ1 Advanced oder EZ1 Advanced XL

- Für das Einlesen der Probanden mit Barcode-Reader (Probenverfolgbarkeit) wird einer der folgenden Artikel benötigt:
 - PC (inklusive Monitor; z.B. QIAGEN PC, Kat.-Nr. 9016310, und Monitor, Kat.-Nr. 9016308, oder eigener PC mit Monitor) mit EZ1 Advanced Communicator Software (die Software gehört beim EZ1 Advanced und beim EZ1 Advanced XL zum Lieferumfang)
 - Drucker (Kat.-Nr. 9018464) und Zubehör-Paket für den Drucker (Kat.-Nr. 9018465)
- Optional: 80 % Ethanol* und 2-ml-Reaktionsgefäße mit Schraubdeckel (falls die optionalen Waschschriffe mit 80%igem Ethanol auf dem EZ1 Advanced (mit Protokollkarte V2.0) oder auf dem EZ1 Advanced XL durchgeführt werden, siehe „Wichtige Hinweise, bevor Sie mit dem Protokoll beginnen“ auf Seite 34 bzw. 37)

* Verwenden Sie keinen vergällten Alkohol, der andere Substanzen, wie z.B. Methanol oder Methylethylketon, enthält.

Wichtige Hinweise

Lagerung der Blutproben

Frisch entnommene oder gefrorene, mit EDTA, Citrat oder Heparin* stabilisierte Vollblut-Proben können verwendet werden. Gefrorene Proben sollten unmittelbar vor Protokollbeginn bei Raumtemperatur (15–25 °C) und unter leichtem Schütteln aufgetaut werden. Die Ausbeute und Qualität der gereinigten DNA hängt von den Bedingungen, unter denen die Blutproben gelagert wurden, ab. Frische Blutproben können zu besseren Ergebnissen führen.

- Für eine kurzfristige Lagerung (maximal 10 Tage), sollte das Blut mit Entnahmeröhrchen entnommen werden, in denen EDTA als Antikoagulans enthalten ist, und darin bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Für Anwendungen jedoch, für die möglichst große DNA-Fragmente benötigt werden, z.B. für Southern-Blotting, empfehlen wir die Lagerung bei 2–8 °C für höchstens 3 Tage, weil bis dahin nur wenig DNA abgebaut wird.
- Für die Langzeitlagerung sollten die Blutproben in Entnahmeröhrchen mit Standard-Antikoagulanzen (vorzugsweise EDTA, wenn möglichst hochmolekulare DNA präpariert werden soll) entnommen und bei –70 °C gelagert werden.
- Verwenden Sie keine Blutproben, in denen Anzeichen von Koagulation zu erkennen sind.

Präzipitate in den Reagenzienkartuschen (RCB)

Im Puffer im 1. Well der Reagenzienkartusche (RCB) – das ist der vorderste Well, wenn die Kartusche im Halter des EZ1 Geräts eingesetzt ist – kann sich bei längerer Lagerung ein Präzipitat bilden. Stellen Sie vor Gebrauch sicher, dass die Reagenzienkartusche (RCB) Raumtemperatur hat. Lösen Sie ggf. ein Präzipitat durch leichtes Schütteln bei 30–40 °C auf.

Hinweise zur Bedienung der EZ1 Geräte

Zu den Hauptmerkmalen der EZ1 Geräte gehören:

- Reinigung qualitativ hochwertiger Nukleinsäuren aus 1–6 oder 1–14 Proben pro Lauf
- kleine Standfläche (spart Platz im Labor)
- vorprogrammierte EZ1 DSP Cards mit gebrauchsfertigen Protokollen

* Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Einmal-Handschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheits-Datenblättern (Safety Data Sheets, SDSs) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

- vorgefüllte, mit Folien verschlossene Reagenzienkartuschen für die einfache, sichere und schnelle Vorbereitung eines Probendurchlaufs
- vollautomatische Nukleinsäure-Reinigung

Zu den weiteren besonderen Merkmalen des EZ1 Advanced und des EZ1 Advanced XL gehören:

- Bar-Code-Reader und Probenverfolgbarkeit
- Rückverfolgbarkeit der Kit-Daten anhand der im Kit mitgelieferten Q-Card
- UV-Lampe, um Probenverschleppungen zwischen verschiedenen Läufen auszuschließen und zur Dekontamination der Arbeitsplattform

i Die Dekontamination mit UV-Licht trägt dazu bei, das Risiko einer möglichen Kontamination der Arbeitsplattformflächen des EZ1 Advanced und des EZ1 Advanced XL mit Pathogenen zu reduzieren. Die Wirksamkeit der Inaktivierung muss für jeden Organismus gesondert bestimmt werden und hängt unter anderem von Schichtdicke und Probentyp ab. QIAGEN kann nicht für die vollständige Entfernung bestimmter Erregerorganismen garantieren.

EZ1 Karten

Das ES1 DSP DNA-Blut-Protokoll für die Reinigung von DNA aus Blutproben ist auf den vorprogrammierten EZ1 Chipkarten gespeichert. Der Anwender steckt die EZ1 Karte einfach in das zugehörige EZ1 Gerät; es ist dann bereit für einen Protokolldurchlauf (siehe Abbildung 9 und 10).



Abbildung 9. Einfache Vorbereitung eines Protokolldurchlaufs mit den EZ1 DSP-Karten. Die Karte mit dem betreffenden Protokoll wird in den Kartenschlitz des EZ1 Geräts gesteckt.

i Das Gerät sollte erst eingeschaltet werden, nachdem eine EZ1 Karte in den Schlitz gesteckt wurde. Die EZ1 Karte muss vollständig in den Schlitz gesteckt

werden! Andernfalls könnten wichtige Gerätedaten verloren gehen, was zu einem Speicherfehler führen könnte. EZ1 Karten sollten nicht bei eingeschaltetem Gerät gewechselt werden.



Abbildung 10. Die EZ1 Karte muss vollständig in den Kartenschlitz eingeführt werden.

Reagenzienkartuschen (RCB)

Alle für die Nukleinsäure-Reinigung aus einer Probe benötigten Reagenzien befinden sich in einer Reagenzienkartusche (RCB; siehe Abbildung 11 auf Seite 30). In jedem Well einer Kartusche (RCB) befindet sich ein bestimmtes Reagenz, z.B. die Suspension mit den magnetischen Partikeln, Lysepuffer, Waschpuffer oder Elutionspuffer (AVE). Da sich in jedem Well nur die tatsächlich benötigte Reagenzienmenge befindet, wird zusätzlicher Flüssigabfall (durch überschüssige Reagenzien), der nach Abschluss der Präparation entsorgt werden muss, vermieden.

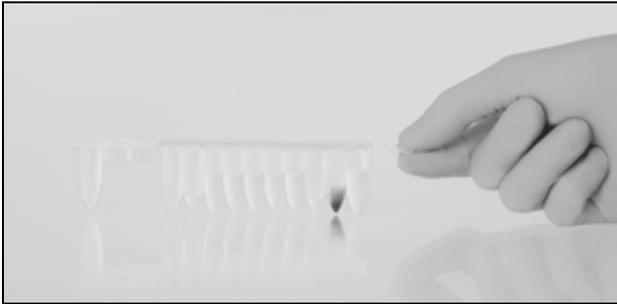
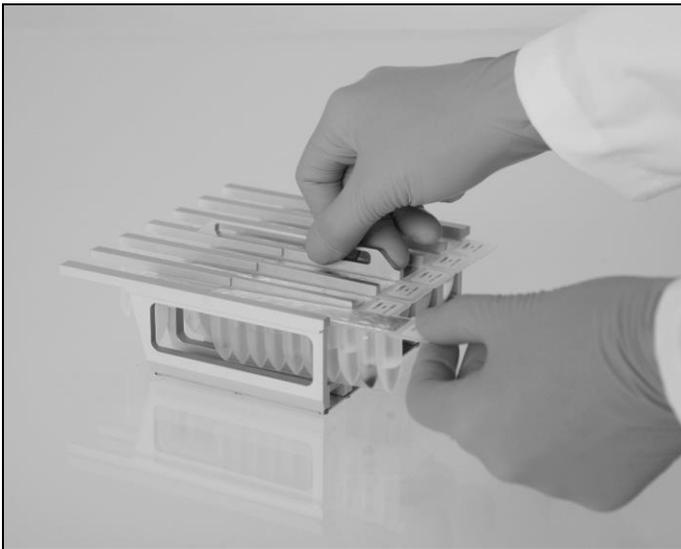
A**B**

Abbildung 11. Einfache Vorbereitung des Geräts durch Verwendung der Reagenzienkartuschen (RCB). **A** Eine verschlossene, vorgefüllte Reagenzienkartusche (RCB). **B** Beladen des Kartuschenhalters mit den Reagenzienkartuschen (RCB). Der Kartuschenhalter ist mit einem Pfeil markiert, um die Richtung anzuzeigen, in der die Reagenzienkartuschen (RCB) in den Halter geschoben werden.

Arbeitsplattform

Zur Vorbereitung eines Laufs wird die Arbeitsplattform des EZ1 Geräts mit den zu verarbeitenden Proben und den Reagenzien des EZ1 DSP DNA Blood Kits beladen (siehe Abbildung 12 auf Seite 31).

Nach Beginn des Protokolls werden die einzelnen Schritte beim Einrichten der Arbeitsplattform im Vakuumfluoreszenz-Display (VFD) des EZ1 Advanced oder EZ1 Advanced XL bzw. im Flüssigkristall-Display (LCD) des Bedienungsfelds beim BioRobot EZ1 DSP angezeigt.

In dem Display werden auch die einzelnen Schritte während der automatischen Nukleinsäure-Reinigung angezeigt.

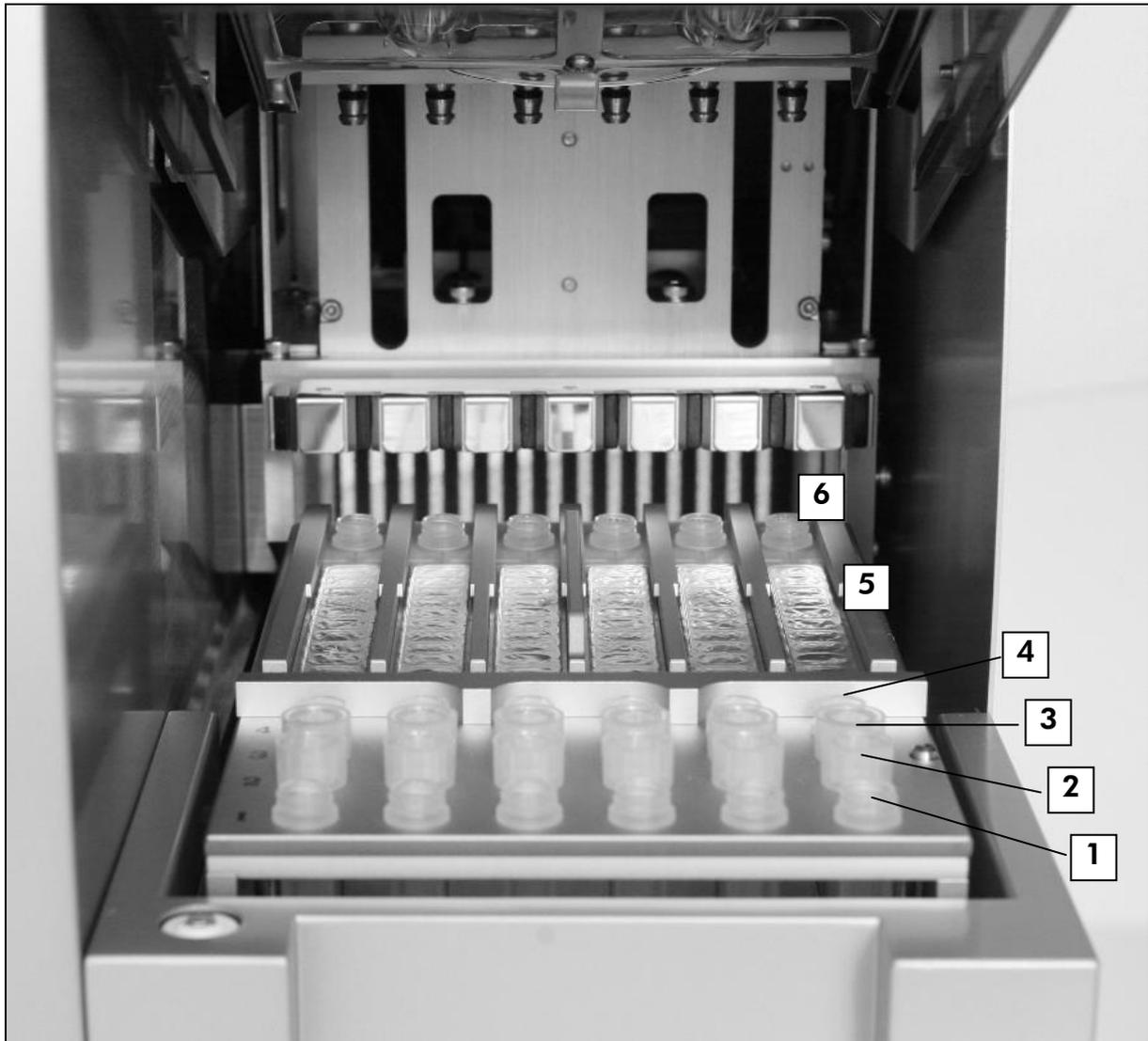


Abbildung 12. Arbeitsplattform eines EZ1 Geräts.

1. 1,5-ml-Elutionsgefäße (ET) in der ersten Reihe.
2. Pipettenspitzen-Halter (DTH) mit Einmal-Filterpipettenspitzen (DFT) in der zweiten Reihe.
3. Die dritte Reihe bleibt beim EZ1 DSP DNA-Blut-Protokoll leer. (Optional: Wenn die Waschschrirte optional mit 80%igem Ethanol durchgeführt werden, werden die 2-ml-Reaktionsgefäße (mit jeweils 1800 μ l 80%iges Ethanol) in diese Reihe gestellt.)
4. 2-ml-Probengefäße (ST) in der vierten Reihe.
5. Reagenzienkartuschen (RCB) im Kartuschenhalter.
6. Der Heizblock bleibt beim EZ1 DSP DNA-Blut-Protokoll leer.

Datenverfolgbarkeit beim EZ1 Advanced und EZ1 Advanced XL

Der EZ1 Advanced und der EZ1 Advanced XL ermöglichen die vollständige Nachverfolgung verschiedener Daten zur Steigerung der Prozesskontrolle und Zuverlässigkeit. Mit dem Einlesen des Barcodes auf der Q-Card zu Beginn eines Protokolllaufs werden auch die Chargen-Nummer des EZ1 Kits und die Haltbarkeitsdaten übernommen. Eine Nutzer-Kennung (User ID) und der

Barcode der Q-Card können auch manuell über das Tastenfeld eingegeben oder durch Scannen des Barcodes mit dem Handscanner eingelesen werden. Optional können vor Beginn des Protokolllaufs darüber hinaus Proben- und Assay-Daten eingegeben werden. Nach Abschluss jedes Laufs wird automatisch eine Reportdatei erstellt. Der EZ1 Advanced und der EZ1 Advanced XL können bis zu zehn Reportdateien speichern. Die Daten können auf einen Computer übertragen oder direkt auf einem angeschlossenen Drucker (Bestellinformationen siehe „Vom Anwender bereitzustellende Ausrüstung und Reagenzien“ auf Seite 25) ausgedruckt werden.

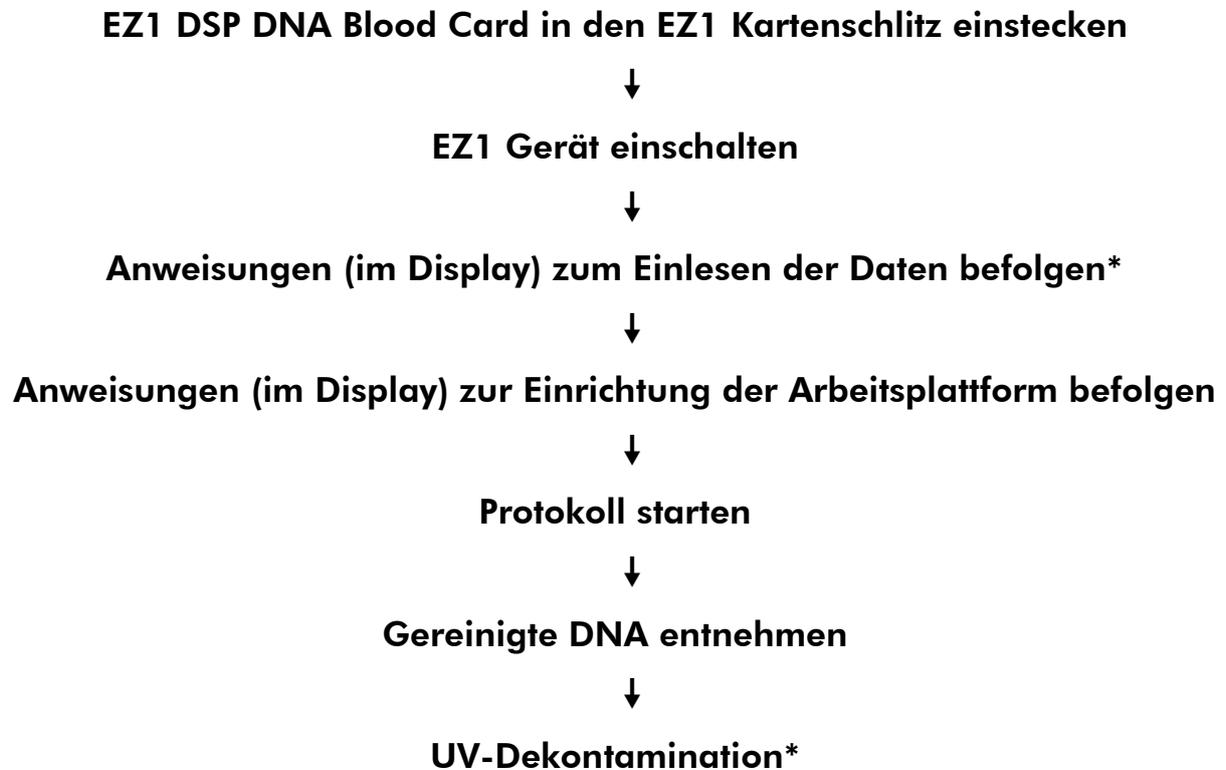
Um Reportdateien auf einem PC speichern zu können, muss die EZ1 Advanced Communicator Software darauf installiert werden. Die Software empfängt die Reportdatei und speichert sie in einem von Ihnen festgelegten Ordner. Wenn die Reportdatei auf dem PC gespeichert ist, können Sie die Datei verwenden und weiterverarbeiten, beispielsweise mit einer LIMS-Software (Laboratory Information Management System) oder anderen Programmen. Eine Beispiel-Reportdatei ist im Anhang D (siehe Seite 76) wiedergegeben. In den Reportdateien sind die sechs bzw. 14 Pipettierkanäle von links nach rechts benannt: Kanal A bis F beim EZ1 Advanced bzw. Kanal 1–14 beim EZ1 Advanced XL.

Wenn eine Nutzer-Kennung (User ID) oder ein Q-Card-Barcode mit dem Barcode-Reader eingescannt wird, ertönt ein Signalton zur Bestätigung der Dateneingabe. Die eingelesenen Daten werden für zwei Sekunden angezeigt und automatisch abgespeichert; danach wird die nächste Meldung im Display angezeigt. Beim Einscannen von Proben-Kennung, Kennung des für den Assay verwendeten Kits und Zusatzinformationen ertönt ein Signalton zur Bestätigung der Dateneingabe; die Daten werden kurz angezeigt und eine weitere Meldung fordert Sie auf, die nächste Einzelinformation einzugeben. Drücken Sie die Enter-Taste („ENT“) nach dem Einscannen der Proben- und Kit-Kennung und der zusätzlichen Informationen einmal, um die Richtigkeit der Daten zu bestätigen. Wurde dagegen beispielsweise ein falscher Barcode für eine der Proben eingescannt, drücken Sie die Escape-Taste („ESC“) und scannen Sie die Barcodes aller Proben neu ein (befolgen Sie dazu die Anweisungen im Display). Die Daten für Nutzer-Kennung und zusätzliche Informationen können Sie über das Tastenfeld eingeben; Sie können aber auch auf einfache Weise Ihre eigenen Barcodes zur Codierung dieser Nummern erzeugen.

 Beginnen Sie beim Laden der Proben immer mit Position A beim EZ1 Advanced bzw. mit Position 1 beim EZ1 Advanced XL, um die Option der Datenverfolgbarkeit zu nutzen. Stellen Sie die übrigen Proben nacheinander in die nächsten freien Positionen auf der Arbeitsplattform.

Weitere Einzelheiten zur Datenverfolgbarkeit und zur EZ1 Advanced Communicator Software finden Sie im *EZ1 Advanced Handbuch* oder im *EZ1 Advanced XL Handbuch*.

Arbeitsablauf beim EZ1 DSP DNA-Blut-Protokoll



* Nur bei EZ1 Advanced und EZ1 Advanced XL.

Protokoll: Reinigung genomischer DNA aus Vollblut mit dem EZ1 Advanced XL

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Wenn Sie den EZ1 DSP DNA Blood Kit zum ersten Mal verwenden, lesen Sie bitte den Abschnitt „Wichtige Hinweise“ auf Seite 27.
- Die Reagenzienkartuschen (RCB) enthalten Guanidinsalze und dürfen nicht mit Desinfektionsmitteln in Kontakt gebracht werden, die Chlorbleiche (Natriumhypochlorit, NaOCl) enthalten. Bitte beachten Sie die im Labor üblichen Vorsichtsmaßnahmen und tragen Sie beim Umgang mit dieser Substanz Laborhandschuhe. Auf Seite 7 finden Sie weitere Sicherheitshinweise.
- Führen Sie alle Protokollschritte bei Raumtemperatur (15–25 °C) durch. Bei allen vorbereitenden Schritten und bei der Einrichtung der Arbeitsplattform sollte zügig gearbeitet werden.
- Überprüfen Sie alle Kit-Komponenten auf Beschädigung, nachdem Sie den Kit bekommen haben. Wenn die Reagenzienkartuschen (RCB) oder andere Kit-Komponenten beschädigt sein sollten, wenden Sie sich bitte an den Technischen Service von QIAGEN oder an Ihren Händler. Im Falle von verschütteten Flüssigkeiten lesen Sie bitte den Abschnitt „Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen“ (siehe Seite 7). Verwenden Sie keine beschädigten Reagenzienkartuschen oder andere Kit-Komponenten, da dies die Präparationsergebnisse beeinträchtigen könnte.
- Die Ausbeute an genomischer DNA hängt von der Anzahl der weißen Blutkörperchen in der Probe (der Leukozytenzahl) ab.

Wichtige Hinweise, bevor Sie mit dem Protokoll beginnen

- Im Lysepuffer in den Reagenzienkartuschen (RCB) kann sich bei längerer Lagerung ein Präzipitat bilden. Stellen Sie vor Gebrauch sicher, dass die Reagenzienkartusche (RCB) Raumtemperatur hat. Falls notwendig, lösen Sie evtl. vorhandene Präzipitate durch Erwärmen (auf 30–40 °C) auf und lassen den Puffer anschließend bei Raumtemperatur stehen.
- Das Protokoll sieht die Option vor, die Waschschrte mit 80%igem Ethanol durchzuführen (statt mit dem Puffer, der in der Reagenzienkartusche enthalten ist). Dies kann für einige nachfolgende Anwendungen von Vorteil sein. Falls Sie diese Option wählen, stellen Sie 2-ml-Reaktionsgefäße mit jeweils 1800 µl 80%iges Ethanol in Reihe 3 der Arbeitsplattform (siehe Abbildung 12 auf Seite 31). Um die für 14 Proben ausreichende Menge 80%iges Ethanol anzusetzen, geben Sie 6 ml nukleasefreies Wasser zu 24

ml 100%iges Ethanol.* Befolgen Sie die Anweisungen, die in den Meldungen im Display angezeigt werden.

Durchführung

1. Lassen Sie die Vollblut-Proben (bis zu 14 Proben pro Lauf) auf Raumtemperatur äquilibrieren.

 Vergewissern Sie sich, dass gefrorene Proben vollständig aufgetaut sind und lassen Sie sie hinreichend lang auf Raumtemperatur (15–25 °C) temperieren. Auch wenn die Proben zuvor bei 2–8 °C gelagert wurden, müssen sie auf Raumtemperatur temperiert werden. Vor Protokollbeginn sollte die Temperatur aller Proben bei 15–25 °C sein, um optimale DNA-Ausbeute und -Reinheit sicherzustellen.

2. Stecken Sie die EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card vollständig in den Kartenschlitz des EZ1 Advanced XL.

3. Schalten Sie das EZ1 Gerät ein.

Der Netzschalter befindet sich auf der Rückseite des Geräts.

4. Drücken Sie „START“, um mit dem Einrichten der Arbeitsplattform für das EZ1 DSP DNA-Blut-Protokoll zu beginnen.

5. Folgen Sie den Anweisungen im Display zum Einrichten der Arbeitsplattform, Einstellen der Protokollvariablen und zum Einlesen der Daten (mit Barcode-Reader).

6. Drücken Sie die Taste „1“ oder „2“, um das Einrichten der Arbeitsplattform für das 200- μ l- bzw. 350- μ l-Protokoll zu starten.

7. Wählen Sie das Elutionsvolumen: Taste „1“ für Elution mit 50 μ l, „2“ für Elution mit 100 μ l und „3“ für die Elution mit 200 μ l.

8. Wählen Sie ggf. die Option, die Waschschritte mit 80%igem Ethanol durchzuführen.

Die folgenden Schritte zur Beladung der Arbeitsplattform werden im Text zusammengefasst.

9. Öffnen Sie die Gerätetür.

10. Mischen Sie die magnetischen Partikel durch viermaliges Umdrehen der 1–14 Reagenzienkartuschen (RCB). Klopfen Sie die Kartuschen dann auf eine Unterlage, um die Reagenzien wieder vollständig am Boden der Wells zu sammeln.

11. Schieben Sie die Reagenzienkartuschen in den Kartuschenhalter.

 Drücken Sie die Reagenzienkartuschen (RCB) nach Einschieben in den Kartuschenhalter, bis sie in ihrer Position fixiert sind (Klick-Geräusch).

* Verwenden Sie keinen vergällten Alkohol, der andere Substanzen, wie z.B. Methanol oder Methylethylketon, enthält.

 Beginnen Sie beim Laden der Proben beim EZ1 Advanced XL immer mit Position 1. Stellen Sie die übrigen Proben nacheinander in die nächsten freien Positionen auf der Arbeitsplattform.

Wenn Sie den Barcode-Reader benutzen, stellen Sie sicher, dass die Proben-Kennzahlen in derselben Reihenfolge eingelesen werden wie die Proben auf der Arbeitsplattform angeordnet sind, um eine Verwechslung auszuschließen.

12. Befolgen Sie die Anweisungen im Display zur weiteren Einrichtung der Arbeitsplattform.

13. Schließen Sie die Gerätetür.

14. Starten Sie den Protokolllauf (durch Drücken der „START“-Taste).

15. Das Ende des Protokolllaufs wird im Display angezeigt („Protocol finished“). Drücken Sie „ENT“, um eine Reportdatei zu erzeugen.

Der EZ1 Advanced XL kann bis zu zehn Reportdateien speichern. Reportdateien können direkt auf einem angeschlossenen Drucker ausgedruckt oder auf einen Computer übertragen werden.

16. Öffnen Sie die Gerätetür.

17. Entnehmen Sie die Elutionsgefäße mit der gereinigten DNA (aus der ersten Reihe). Verwerfen Sie den Flüssigabfall nach der Probenverarbeitung.

18. Optional: Befolgen Sie die Anweisungen im Display zur UV-Dekontamination der Oberflächen auf der Arbeitsplattform.

19. Führen Sie die reguläre Wartungsprozedur durch; sie ist im Handbuch Ihres EZ1 Geräts beschrieben.

Die reguläre Wartung muss im Anschluss an jeden Protokolldurchlauf durchgeführt werden. Sie umfasst die Reinigung der Durchstech-Einheit und der Oberflächen der Arbeitsplattform.

 Die Lochernadelspitzen haben einen scharfen Rand! Es wird empfohlen, zwei Paar Handschuhe zu tragen.

20. Um einen weiteren Protokolldurchlauf zu starten, drücken Sie „START“, führen Sie dann die Protokollschritte 1 und 2 durch und fahren Sie mit Schritt 5 fort. Drücken Sie andernfalls zweimal „STOP“, um zum Ausgangs-Menü im Display zurückzukehren. Schließen Sie die Gerätetür und schalten Sie das EZ1 Gerät aus.

Die Schritte 3 und 4 sind nicht notwendig, wenn Sie einen weiteren Protokolllauf durchführen möchten. Überspringen Sie diese Schritte.

* Der während des Protokolls anfallende Flüssigabfall enthält Guanidinsalze und darf nicht in Kontakt zu Chlorbleiche geraten. Auf Seite 7 finden Sie weitere Sicherheitshinweise.

Protokoll: Reinigung genomischer DNA aus Vollblut mit dem EZ1 Advanced (mit V2.0-Karte)

Dieses Protokoll ist für die Verwendung mit der EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card V2.0, einer aktualisierten Version der ursprünglichen V1.0-Karte, vorgesehen. Wenn Sie die Version 1.0 der Karte benutzen, befolgen Sie das „Protokoll: Reinigung genomischer DNA aus Vollblut mit dem EZ1 Advanced (mit V1.0-Karte)“ auf Seite 41.

Das Protokoll auf der V2.0-Karte enthält zusätzliche Protokolloptionen, die verschiedene Proben-Ausgangsvolumina und Elutionsvolumina sowie die optionalen Waschschrte mit 80%igem Ethanol ermöglichen. Das Protokoll der V2.0-Karte entspricht dem der Original-Karte (Version 1.0), falls das Original-Proben- und Elutionsvolumen sowie die Waschpuffer verwendet werden.

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Wenn Sie den EZ1 DSP DNA Blood Kit zum ersten Mal verwenden, lesen Sie bitte den Abschnitt „Wichtige Hinweise“ auf Seite 27.
- Die Reagenzienkartuschen (RCB) enthalten Guanidinsalze und dürfen nicht mit Desinfektionsmitteln in Kontakt gebracht werden, die Chlorbleiche (Natriumhypochlorit, NaOCl) enthalten. Bitte beachten Sie die im Labor üblichen Vorsichtsmaßnahmen und tragen Sie beim Umgang mit dieser Substanz Laborhandschuhe. Auf Seite 7 finden Sie weitere Sicherheitshinweise.
- Führen Sie alle Protokollschritte bei Raumtemperatur (15–25 °C) durch. Bei allen vorbereitenden Schritten und bei der Einrichtung der Arbeitsplattform sollte zügig gearbeitet werden.
- Überprüfen Sie alle Kit-Komponenten auf Beschädigung, nachdem Sie den Kit bekommen haben. Wenn die Reagenzienkartuschen (RCB) oder andere Kit-Komponenten beschädigt sein sollten, wenden Sie sich bitte an den Technischen Service von QIAGEN oder an Ihren Händler. Im Falle von verschütteten Flüssigkeiten lesen Sie bitte den Abschnitt „Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen“ (siehe Seite 7). Verwenden Sie keine beschädigten Reagenzienkartuschen oder andere Kit-Komponenten, da dies die Präparationsergebnisse beeinträchtigen könnte.
- Die Ausbeute an genomischer DNA hängt von der Anzahl der weißen Blutkörperchen in der Probe (der Leukozytenzahl) ab.

Wichtige Hinweise, bevor Sie mit dem Protokoll beginnen

- Im Lysepuffer in den Reagenzienkartuschen (RCB) kann sich bei längerer Lagerung ein Präzipitat bilden. Stellen Sie vor Gebrauch sicher, dass die Reagenzienkartusche (RCB) Raumtemperatur hat. Falls notwendig, lösen

Sie evtl. vorhandene Präzipitate durch Erwärmen (auf 30–40 °C) auf und lassen den Puffer anschließend bei Raumtemperatur stehen.

- Das Protokoll sieht die Option vor, die Waschschrirte mit 80%igem Ethanol durchzuführen (statt mit dem Puffer, der in der Reagenzienkartusche enthalten ist). Dies kann für einige nachfolgende Anwendungen von Vorteil sein. Falls Sie diese Option wählen, stellen Sie 2-ml-ReaktionsgefäÙe mit jeweils 1800 µl 80%iges Ethanol in Reihe 3 der Arbeitsplattform (siehe Abbildung 12 auf Seite 31). Um die für sechs Proben ausreichende Menge 80%iges Ethanol anzusetzen, geben Sie 3 ml nukleasefreies Wasser zu 12 ml 100%iges Ethanol.* Befolgen Sie die Anweisungen, die in den Meldungen im Display angezeigt werden.

Durchführung

- 1. Lassen Sie die Vollblut-Proben (bis zu sechs Proben pro Lauf) auf Raumtemperatur äquilibrieren.**

 Vergewissern Sie sich, dass gefrorene Proben vollständig aufgetaut sind und lassen Sie sie hinreichend lang auf Raumtemperatur (15–25 °C) temperieren. Auch wenn die Proben zuvor bei 2–8 °C gelagert wurden, müssen sie auf Raumtemperatur temperiert werden. Vor Protokollbeginn sollte die Temperatur aller Proben bei 15–25 °C sein, um optimale DNA-Ausbeute und -Reinheit sicherzustellen.

- 2. Stecken Sie die EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card (V2.0) vollständig in den Kartenschlitz des EZ1 Advanced.**
- 3. Schalten Sie das EZ1 Gerät ein.**
Der Netzschalter befindet sich auf der Rückseite des Geräts.
- 4. Drücken Sie „START“, um mit dem Einrichten der Arbeitsplattform für das EZ1 DSP DNA-Blut-Protokoll zu beginnen.**
- 5. Folgen Sie den Anweisungen im Display zum Einrichten der Arbeitsplattform, Einstellen der Protokollvariablen und zum Einlesen der Daten (mit Barcode-Reader).**
- 6. Drücken Sie die Taste „1“ oder „2“, um das Einrichten der Arbeitsplattform für das 200-µl- bzw. 350-µl-Protokoll zu starten.**
- 7. Wählen Sie das Elutionsvolumen: Taste „1“ für Elution mit 50 µl, „2“ für Elution mit 100 µl und „3“ für die Elution mit 200 µl.**
- 8. Wählen Sie ggf. die Option, die Waschschrirte mit 80%igem Ethanol durchzuführen.**

Die folgenden Schritte zur Beladung der Arbeitsplattform werden im Text zusammengefasst.

* Verwenden Sie keinen vergällten Alkohol, der andere Substanzen, wie z.B. Methanol oder Methylethylketon enthält.

- 9. Öffnen Sie die Gerätetür.**
- 10. Mischen Sie die magnetischen Partikel durch viermaliges Umdrehen der 1–6 Reagenzienkartuschen (RCB). Klopfen Sie die Kartuschen dann auf eine Unterlage, um die Reagenzien wieder vollständig am Boden der Wells zu sammeln.**
- 11. Schieben Sie die Reagenzienkartuschen in den Kartuschenhalter.**
 - i** Drücken Sie die Reagenzienkartuschen (RCB) nach Einschieben in den Kartuschenhalter, bis sie in ihrer Position fixiert sind (Klick-Geräusch).
 - i** Beginnen Sie beim Laden der Proben beim EZ1 Advanced immer mit Position A. Stellen Sie die übrigen Proben nacheinander in die nächsten freien Positionen auf der Arbeitsplattform.

Wenn Sie den Barcode-Reader benutzen, stellen Sie sicher, dass die Proben-Kenndaten in derselben Reihenfolge eingelesen werden wie die Proben auf der Arbeitsplattform angeordnet sind, um eine Verwechslung auszuschließen.
- 12. Befolgen Sie die Anweisungen im Display zur weiteren Einrichtung der Arbeitsplattform.**
- 13. Schließen Sie die Gerätetür.**
- 14. Starten Sie den Protokolllauf (durch Drücken der „START“-Taste).**
- 15. Das Ende des Protokolllaufs wird im Display angezeigt („Protocol finished“). Drücken Sie „ENT“, um eine Reportdatei zu erzeugen.**

Der EZ1 Advanced kann bis zu zehn Reportdateien speichern.
Reportdateien können direkt auf einem angeschlossenen Drucker ausgedruckt oder auf einen Computer übertragen werden.
- 16. Öffnen Sie die Gerätetür.**
- 17. Entnehmen Sie die Elutionsgefäße mit der gereinigten DNA (aus der ersten Reihe). Verwerfen Sie den Flüssigabfall nach der Probenverarbeitung.**
- 18. Optional: Befolgen Sie die Anweisungen im Display zur UV-Dekontamination der Oberflächen auf der Arbeitsplattform.**

* Der während des Protokolls anfallende Flüssigabfall enthält Guanidinsalze und darf nicht in Kontakt zu Chlorbleiche geraten. Auf Seite 7 finden Sie weitere Sicherheitshinweise.

19. Führen Sie die reguläre Wartungsprozedur durch; sie ist im Handbuch Ihres EZ1 Geräts beschrieben.

Die reguläre Wartung muss im Anschluss an jeden Protokolldurchlauf durchgeführt werden. Sie umfasst die Reinigung der Durchstech-Einheit und der Oberflächen der Arbeitsplattform.

 Die Lochernadelspitzen haben einen scharfen Rand! Es wird empfohlen, zwei Paar Handschuhe zu tragen.

20. Um einen weiteren Protokolldurchlauf zu starten, drücken Sie „START“, führen Sie dann die Protokollschritte 1 und 2 durch und fahren Sie mit Schritt 5 fort. Drücken Sie andernfalls zweimal „STOP“, um zum Ausgangs-Menü im Display zurückzukehren. Schließen Sie die Gerätetür und schalten Sie das EZ1 Gerät aus.

Die Schritte 3 und 4 sind nicht notwendig, wenn Sie einen weiteren Protokolllauf durchführen möchten. Überspringen Sie diese Schritte.

Protokoll: Reinigung genomischer DNA aus Vollblut mit dem EZ1 Advanced (mit V1.0-Karte)

Dieses Protokoll ist für die Verwendung der original EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card V1.0 vorgesehen. Wenn Sie die Version 2.0 der Karte benutzen, befolgen Sie das „Protokoll: Reinigung genomischer DNA aus Vollblut mit dem EZ1 Advanced (mit V2.0-Karte)“ auf Seite 37.

Das Protokoll auf der V2.0-Karte enthält zusätzliche Protokolloptionen, die verschiedene Proben-Ausgangsvolumina und Elutionsvolumina sowie die optionalen Waschschriffe mit 80%igem Ethanol ermöglichen. Das Protokoll der V2.0-Karte entspricht dem der Original-Karte (Version 1.0), falls das Original-Proben- und Elutionsvolumen sowie die Waschpuffer verwendet werden.

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Wenn Sie den EZ1 DSP DNA Blood Kit zum ersten Mal verwenden, lesen Sie bitte den Abschnitt „Wichtige Hinweise“ auf Seite 27.
- Die Reagenzienkartuschen (RCB) enthalten Guanidinsalze und dürfen nicht mit Desinfektionsmitteln in Kontakt gebracht werden, die Chlorbleiche (Natriumhypochlorit, NaOCl) enthalten. Bitte beachten Sie die im Labor üblichen Vorsichtsmaßnahmen und tragen Sie beim Umgang mit dieser Substanz Laborhandschuhe. Auf Seite 7 finden Sie weitere Sicherheitshinweise.
- Führen Sie alle Protokollschritte bei Raumtemperatur (15–25 °C) durch. Bei allen vorbereitenden Schritten und bei der Einrichtung der Arbeitsplattform sollte zügig gearbeitet werden.
- Überprüfen Sie alle Kit-Komponenten auf Beschädigung, nachdem Sie den Kit bekommen haben. Wenn die Reagenzienkartuschen (RCB) oder andere Kit-Komponenten beschädigt sein sollten, wenden Sie sich bitte an den Technischen Service von QIAGEN oder an Ihren Händler. Im Falle von verschütteten Flüssigkeiten lesen Sie bitte den Abschnitt „Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen“ (siehe Seite 7). Verwenden Sie keine beschädigten Reagenzienkartuschen oder andere Kit-Komponenten, da dies die Präparationsergebnisse beeinträchtigen könnte.
- Die Ausbeute an genomischer DNA hängt von der Anzahl der weißen Blutkörperchen in der Probe (der Leukozytenzahl) ab.

Weitere wichtige Hinweise, bevor Sie mit dem Protokoll beginnen

- Im Lysepuffer in den Reagenzienkartuschen (RCB) kann sich bei längerer Lagerung ein Präzipitat bilden. Stellen Sie vor Gebrauch sicher, dass die Reagenzienkartusche (RCB) Raumtemperatur hat. Falls notwendig, lösen

Sie evtl. vorhandene Präzipitate durch Erwärmen (auf 30–40 °C) auf und lassen den Puffer anschließend bei Raumtemperatur stehen.

Durchführung

1. Lassen Sie die Vollblut-Proben (bis zu sechs Proben pro Lauf) auf Raumtemperatur äquilibrieren.

 Vergewissern Sie sich, dass gefrorene Proben vollständig aufgetaut sind und lassen Sie sie hinreichend lang auf Raumtemperatur (15–25 °C) temperieren. Auch wenn die Proben zuvor bei 2–8 °C gelagert wurden, müssen sie auf Raumtemperatur temperiert werden. Vor Protokollbeginn sollte die Temperatur aller Proben bei 15–25 °C sein, um optimale DNA-Ausbeute und -Reinheit sicherzustellen.

2. Stecken Sie die EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card (V1.0) vollständig in den Kartenschlitz des EZ1 Advanced.

3. Schalten Sie das EZ1 Gerät ein.

Der Netzschalter befindet sich auf der Rückseite des Geräts.

4. Drücken Sie „START“, um das EZ1 DSP DNA-Blut-Protokoll zu starten.

5. Öffnen Sie die Gerätetür.

6. Mischen Sie die magnetischen Partikel durch viermaliges Umdrehen der 1–6 Reagenzienkartuschen (RCB). Klopfen Sie die Kartuschen dann auf eine Unterlage, um die Reagenzien wieder vollständig am Boden der Wells zu sammeln.

7. Folgen Sie den Anweisungen im Display zum Einrichten der Arbeitsplattform, Einstellen der Protokollvariablen und zum Einlesen der Daten (mit Barcode-Reader).

 Drücken Sie die Reagenzienkartuschen (RCB) nach Einschieben in den Kartuschenhalter, bis sie in ihrer Position fixiert sind (Klick-Geräusch).

 Beginnen Sie beim Laden der Proben beim EZ1 Advanced immer mit Position A. Stellen Sie die übrigen Proben nacheinander in die nächsten freien Positionen auf der Arbeitsplattform.

Wenn Sie den Barcode-Reader benutzen, stellen Sie sicher, dass die Proben-Kenndaten in derselben Reihenfolge eingelesen werden wie die Proben auf der Arbeitsplattform angeordnet sind, um eine Verwechslung auszuschließen.

8. Schließen Sie die Gerätetür.

9. Starten Sie den Protokolllauf (durch Drücken der „START“-Taste).

10. Das Ende des Protokolllaufs wird im Display angezeigt („Protocol finished“). Drücken Sie „ENT“, um eine Reportdatei zu erzeugen.

Der EZ1 Advanced kann bis zu zehn Reportdateien speichern. Reportdateien können direkt auf einem angeschlossenen Drucker ausgedruckt oder auf einen Computer übertragen werden.

- 11. Öffnen Sie die Gerätetür.**
- 12. Entnehmen Sie die Elutionsgefäße mit der gereinigten DNA (aus der ersten Reihe). Verwerfen Sie den Flüssigabfall nach der Probenverarbeitung.**
- 13. Optional: Befolgen Sie die Anweisungen im Display zur UV-Dekontamination der Oberflächen auf der Arbeitsplattform.**
- 14. Führen Sie die reguläre Wartungsprozedur durch; sie ist im Handbuch Ihres EZ1 Geräts beschrieben.**

Die reguläre Wartung muss im Anschluss an jeden Protokolldurchlauf durchgeführt werden. Sie umfasst die Reinigung der Durchstech-Einheit und der Oberflächen der Arbeitsplattform.

 Die Lochernadelspitzen haben einen scharfen Rand! Es wird empfohlen, zwei Paar Handschuhe zu tragen.

- 15. Um einen weiteren Protokolldurchlauf zu starten, drücken Sie „START“, führen Sie dann die Protokollschritte 1 und 2 durch und fahren Sie mit Schritt 5 fort. Drücken Sie andernfalls zweimal „STOP“, um zum Ausgangs-Menü im Display zurückzukehren. Schließen Sie die Gerätetür und schalten Sie das EZ1 Gerät aus.**

Die Schritte 3 und 4 sind nicht notwendig, wenn Sie einen weiteren Protokolllauf durchführen möchten. Überspringen Sie diese Schritte.

* Der während des Protokolls anfallende Flüssigabfall enthält Guanidinsalze und darf nicht in Kontakt zu Chlorbleiche geraten. Auf Seite 7 finden Sie weitere Sicherheitshinweise.

Protokoll: Reinigung genomischer DNA aus Vollblut mit dem BioRobot EZ1 DSP

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Wenn Sie den EZ1 DSP DNA Blood Kit zum ersten Mal verwenden, lesen Sie bitte den Abschnitt „Wichtige Hinweise“ auf Seite 27.
- Die Reagenzienkartuschen (RCB) enthalten Guanidinsalze und dürfen nicht mit Desinfektionsmitteln in Kontakt gebracht werden, die Chlorbleiche (Natriumhypochlorit, NaOCl) enthalten. Bitte beachten Sie die im Labor üblichen Vorsichtsmaßnahmen und tragen Sie beim Umgang mit dieser Substanz Laborhandschuhe. Auf Seite 7 finden Sie weitere Sicherheitshinweise.
- Führen Sie alle Protokollschritte bei Raumtemperatur (15–25 °C) durch. Bei allen vorbereitenden Schritten und bei der Einrichtung der Arbeitsplattform sollte zügig gearbeitet werden.
- Überprüfen Sie alle Kit-Komponenten auf Beschädigung, nachdem Sie den Kit bekommen haben. Wenn die Reagenzienkartuschen (RCB) oder andere Kit-Komponenten beschädigt sein sollten, wenden Sie sich bitte an den Technischen Service von QIAGEN oder an Ihren Händler. Im Falle von verschütteten Flüssigkeiten lesen Sie bitte den Abschnitt „Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen“ (siehe Seite 7). Verwenden Sie keine beschädigten Reagenzienkartuschen oder andere Kit-Komponenten, da dies die Präparationsergebnisse beeinträchtigen könnte.
- Die Ausbeute an genomischer DNA hängt von der Anzahl der weißen Blutkörperchen in der Probe (der Leukozytenzahl) ab.

Weitere wichtige Hinweise, bevor Sie mit dem Protokoll beginnen

- Im Lysepuffer in den Reagenzienkartuschen (RCB) kann sich bei längerer Lagerung ein Präzipitat bilden. Stellen Sie vor Gebrauch sicher, dass die Reagenzienkartusche (RCB) Raumtemperatur hat. Falls notwendig, lösen Sie evtl. vorhandene Präzipitate durch Erwärmen (auf 30–40 °C) auf und lassen den Puffer anschließend bei Raumtemperatur stehen.

Durchführung

1. Lassen Sie die Vollblut-Proben (bis zu sechs Proben pro Lauf) auf Raumtemperatur äquilibrieren.

-  Vergewissern Sie sich, dass gefrorene Proben vollständig aufgetaut sind und lassen Sie sie hinreichend lang auf Raumtemperatur (15–25 °C) temperieren. Auch wenn die Proben zuvor bei 2–8 °C gelagert wurden,

müssen sie auf Raumtemperatur temperiert werden. Vor Protokollbeginn sollte die Temperatur aller Proben bei 15–25 °C sein, um optimale DNA-Ausbeute und -Reinheit sicherzustellen.

- 2. Stecken Sie die EZ1 DSP DNA Blood Card vollständig in den Kartenschlitz des BioRobot EZ1 DSP.**
- 3. Schalten Sie das EZ1 Gerät ein.**
Der Netzschalter befindet sich auf der Rückseite des Geräts.
- 4. Drücken Sie „START“, um das EZ1 DSP DNA-Blut-Protokoll zu starten.**
- 5. Öffnen Sie die Gerätetür.**
- 6. Mischen Sie die magnetischen Partikel durch viermaliges Umdrehen der 1–6 Reagenzienkartuschen (RCB). Klopfen Sie die Kartuschen dann auf eine Unterlage, um die Reagenzien wieder vollständig am Boden der Wells zu sammeln.**
- 7. Folgen Sie den Anweisungen im Display zur Einrichtung der Arbeitsplattform und zur Einstellung der Protokollvariablen.**
 - i** Drücken Sie die Reagenzienkartuschen (RCB) nach Einschieben in den Kartuschenhalter, bis sie in ihrer Position fixiert sind (Klick-Geräusch).
 - i** Wenn weniger als sechs Reagenzienkartuschen (RCB) eingesetzt werden, können Sie sie beliebig auf dem Halter positionieren. Achten Sie aber darauf, dass die Anordnung der übrigen Labormaterialien auf der Arbeitsplattform dieser Anordnung entspricht.
- 8. Schließen Sie die Gerätetür.**
- 9. Starten Sie den Protokolllauf (durch Drücken der „START“-Taste).**
Das Ende des Protokolllaufs wird im Display angezeigt („Protocol finished“).
- 10. Öffnen Sie die Gerätetür.**
- 11. Entnehmen Sie die Elutionsgefäße mit der gereinigten DNA (aus der ersten Reihe). Verwerfen Sie den Flüssigabfall nach der Probenverarbeitung.**

* Der während des Protokolls anfallende Flüssigabfall enthält Guanidinsalze und darf nicht in Kontakt zu Chlorbleiche geraten. Auf Seite 7 finden Sie weitere Sicherheitshinweise.

12. Führen Sie die reguläre Wartungsprozedur durch; sie ist im Handbuch Ihres EZ1 Geräts beschrieben.

Die reguläre Wartung muss im Anschluss an jeden Protokolldurchlauf durchgeführt werden. Sie umfasst die Reinigung der Durchstech-Einheit und der Oberflächen der Arbeitsplattform.

 Die Lochernadelspitzen haben einen scharfen Rand! Es wird empfohlen, zwei Paar Handschuhe zu tragen.

13. Um einen weiteren Protokolldurchlauf zu starten, drücken Sie „START“, führen Sie dann die Protokollschritte 1 und 2 durch und fahren Sie mit Schritt 5 fort. Drücken Sie andernfalls zweimal „STOP“, um zum Ausgangs-Menü im Display zurückzukehren. Schließen Sie die Gerätetür und schalten Sie das EZ1 Gerät aus.

Die Schritte 3 und 4 sind nicht notwendig, wenn Sie einen weiteren Protokolllauf durchführen möchten. Überspringen Sie diese Schritte.

Hilfe zur Fehlersuche

Diese Anleitung zur Fehlersuche soll Ihnen eine Hilfe geben, falls einmal Probleme auftreten sollten. Weitere Informationen finden Sie auch auf der „Frequently Asked Questions“-Seite unseres Support-Centers unter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Darüber hinaus steht Ihnen unser Technischer Service (Tel.-Nr. siehe hintere Umschlagseite oder unter www.qiagen.com) unterstützend zur Seite, falls Sie Fragen zum Protokoll oder zu anderen Angaben in diesem Handbuch haben sollten. Das Team besteht aus erfahrenen Wissenschaftlern, die Ihnen in allen molekularbiologischen Fragen gerne weiterhelfen.

Kommentare und Vorschläge

Allgemeine Hinweise zur Handhabung

Fehlermeldung im Geräte-Display

 Lesen Sie im Handbuch Ihres EZ1 Geräts nach.

Niedrige DNA-Ausbeute

a) Magnet-Partikel nicht vollständig resuspendiert.

 Resuspendieren Sie die Magnet-Partikel gründlich, bevor Sie die Reagenzienkartuschen (RCB) in den Halter schieben.

b) Nicht genügend Reagenz pipettiert.

 Nachdem Sie die Magnet-Partikel resuspendiert haben (durch mehrmaliges Umdrehen der Reagenzienkartuschen), sollten Sie die Kartuschen auf eine Unterlage klopfen, um sicherzustellen, dass die Reagenzien sich vollständig am Boden der Wells befinden.

c) Gefrorene Blutproben wurden nach dem Auftauen nicht gründlich genug gemischt.

 Tauen Sie die gefrorenen Blutproben in einem Brutschrank* oder Wasserbad* bei 30–40 °C unter leichtem Schütteln auf, um ein gründliches Mischen sicherzustellen.

* Stellen Sie sicher, dass die Geräte regelmäßig und gemäß den Herstellerangaben überprüft, gewartet und kalibriert werden.

Kommentare und Vorschläge

- d) Präzipitate in den Wells der Reagenzienkartuschen (RCB).  Setzen Sie die Reagenzienkartuschen in einen Schüttelinkubator und inkubieren Sie sie unter leichtem Schütteln für bis zu 2 Stunden bei 30–40 °C. Falls sich die Präzipitate dann nicht aufgelöst haben, sollten Sie die Reagenzienkartuschen nicht verwenden.

Nachfolgende Applikationen verlaufen mit der gereinigten DNA nicht optimal

- a) Nicht genügend DNA in der nachfolgenden Reaktion eingesetzt.  Bestimmen Sie den Gehalt an gereinigter DNA im Eluat durch spektrofotometrische Messung der Absorption bei 260 nm (siehe den Abschnitt „Bestimmung von Konzentration und Ausbeute an DNA“ auf Seite 73).
- b) Zu viel DNA in der nachfolgenden Anwendung eingesetzt.  Überschüssige DNA kann einige enzymatische Reaktionen hemmen. Bestimmen Sie den Gehalt an gereinigter DNA im Eluat durch spektrofotometrische Messung der Absorption bei 260 nm (siehe den Abschnitt „Bestimmung von Konzentration und Ausbeute an DNA“ auf Seite 73).
- c) Inhibition der nachfolgenden Applikation  Einige nachfolgende Applikationen zeigen eventuell eine bessere Performance, wenn die Waschschriffe statt mit dem Puffer, der sich in den Reagenzienkartuschen befindet, mit 80%igem Ethanol durchgeführt werden. Diese Option steht bei Verwendung der EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card V2.0 (siehe Seite 37) oder der EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card (siehe Seite 34) zur Verfügung.

Das Absorptionsverhältnis A_{260}/A_{280} der gereinigten Nukleinsäuren ist zu niedrig

Der Absorptionswert bei 320 nm wurde nicht von den bei 260 nm und 280 nm gemessenen Werten abgezogen.

ⓘ Um den DNA-Gehalt im Eluat um eventuell vorhandene Magnet-Partikel zu korrigieren, sollte eine Absorptionsmessung bei 320 nm vorgenommen werden und vom Absorptionsergebnis bei 260 nm und 280 nm abgezogen werden (siehe den Abschnitt „Bestimmung von Konzentration und Ausbeute an DNA“ in Anhang B).

Anhang A: Systemmeldungen im Display

Die Meldungen, die bei der Einrichtung der Arbeitsplattform sowie während und nach Ende des Protokolllaufs von der Systemsoftware ausgegeben werden, sind in den Tabellen 6 bis 9 wiedergegeben. Die Nummern der in den Tabellen angegebenen Meldungen entsprechen dabei den Nummern der Meldungen, wie sie auch vom System angezeigt werden.

Informationen zu allgemeinen Fehlermeldungen im EZ1 Geräte-Display finden Sie im Handbuch Ihres EZ1 Geräts.

Tabelle 6. Systemmeldungen beim DNA-Blut-Protokoll auf dem EZ1 Advanced XL

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced XL Meldungstext	Erläuterung
keine	Benutzerführung	Date/time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup	Datum/Uhrzeit START: Starten des Laufs. 1: UV-Dekontamination 2: Manuell 3: Test-Menü 4: Setup-Menü
1	Benutzerführung	EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Version 1.0	Startmeldung mit Versions-Nr. des Protokolls.
2	Datenverfolgbarkeit	Enter user ID ENT: Next	Anwender-Kennung eingeben/scannen. ENT = Nächster Schritt
3	Datenverfolgbarkeit	Enter Q-Card bar code ENT: Next	Barcode der Q-Card eingeben/scannen. ENT = Nächster Schritt
4	Benutzerführung	Wrong kit! Please load DSP DNA Blood kit ENT: Back	Falscher Kit! Bitte EZ1 DSP DNA Blood Kit verwenden. ENT = Zurück
5	Benutzerführung	Kit expired! MMYY: ENT: Use new kit ESC: Stop protocol	Haltbarkeitsdatum abgelaufen. (Angabe in) MMJJ: ENT = Neuen Kit verwenden ESC = Protokolllauf abbrechen

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 6. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced XL Meldungstext	Erläuterung
6	Datenverfolgbarkeit	Use Q-Card data with sample 1 to [X] Enter 1 to 14 ENT: Next	Q-Card-Daten mit Probe Nr. 1 bis [X] verwenden. Anzahl 1 bis 14 eingeben ENT = Nächster Schritt
7	Datenverfolgbarkeit	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: No	Möchten Sie weitere Proben mit einer anderen Kit-Charge verarbeiten? ENT = Ja; ESC = Nein
8	Datenverfolgbarkeit	Do you want to add sample IDs? ENT: Yes, ESC: No	Möchten Sie die Proben-ID hinzufügen? ENT = Ja, ESC = Nein
9	Datenverfolgbarkeit	Enter sample ID for sample no. [x] ENT: Next	Proben-ID von Probe Nr. [x] eingeben/scannen. ENT = Nächste
10	Datenverfolgbarkeit	Do you want to check sample IDs? ENT: Yes, ESC: No	Möchten Sie die Proben-IDs prüfen? ENT = Ja; ESC = Nein
11	Datenverfolgbarkeit	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next	ID 1: ID 2: ID 3: Nächste = Pfeiltaste n. UNTEN
12	Datenverfolgbarkeit	ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: Next, UP: Back	ID 4: ID 5: ID 6: Nächste = Pfeiltaste n. UNTEN; Vorige = Pfeiltaste n. OBEN
13	Datenverfolgbarkeit	ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: Next, UP: Back	ID 7: ID 8: ID 9: Nächste = Pfeiltaste n. UNTEN; Vorige = Pfeiltaste n. OBEN

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 6. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced XL Meldungstext	Erläuterung
14	Datenverfolgbarkeit	ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Next, UP: Back	ID 10: ID 11: ID 12: Nächste = Pfeiltaste n. UNTEN; Vorige = Pfeiltaste n. OBEN
15	Datenverfolgbarkeit	ID 13: ID 14: ESC: Rescan ENT: Next, UP: Back	ID 13: ID 14: ESC = Erneut Scannen ENT = Nächster Schritt Zurück = Pfeiltaste n. OBEN
16	Datenverfolgbarkeit	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No	Möchten Sie Assay- Informationen hinzufügen? ENT = Ja; ESC = Nein
17	Datenverfolgbarkeit	Enter assay ID for sample no.[X] ENT: Next	Assay-ID von Probe Nr. [x] eingeben/scannen. ENT = Nächste
18	Datenverfolgbarkeit	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes, ESC: No	Möchten Sie die Assay-IDs prüfen? ENT = Ja; ESC = Nein
19	Datenverfolgbarkeit	Do you want to add notes? ENT: Yes, ESC: No	Möchten Sie Notizen hinzufügen? ENT = Ja; ESC = Nein
20	Datenverfolgbarkeit	Enter notes for sample no. [x] ENT: Next	Notizen zu Probe Nr. [x] eingeben/scannen. ENT = Nächste
21	Datenverfolgbarkeit	Do you want to check notes? ENT: Yes, ESC: No	Möchten Sie die Notizen prüfen? ENT = Ja; ESC = Nein

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 6. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced XL Meldungstext	Erläuterung
22	Benutzerführung	Select protocol 1: 200ul DSP Blood 2: 350ul DSP Blood Choose 1 or 2	Wählen Sie das Protokoll (Probenvolumen). 1 = 200 µl Blut 2 = 350 µl Blut Ziffern-Taste „1“ oder „2“ drücken.
23	Benutzerführung	Select elution volume: 1: 50ul 2: 100ul 3: 200ul	Wählen Sie das Elutionsvolumen. 1 = 50 µl 2 = 100 µl 3 = 200 µl
24	Benutzerführung	Pure ethanol wash? 1: No 2: Yes Choose 1 or 2	Waschschritte mit reinem Ethanol durchführen? 1 = Nein 2 = Ja Ziffern-Taste „1“ oder „2“ drücken.
25	Benutzerführung	You have chosen: [xxx]ul blood, EtOH [xxx]ul elution ENT: Next, ESC: Back	Anzeige Ihrer Auswahl: Probenvolumen: [xxx] µl Blut; EtOH; Elutionsvolumen: [xxx] µl ENT = Nächster Schritt; ESC = Zurück
26	Benutzerführung	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back	Reagenzienkartuschen in gleiche Positionen wie die zu verarbeitenden Proben laden. ENT = Nächster Schritt; ESC = Zurück
27	Benutzerführung	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row ENT: Next, ESC: Back	1,5-ml-Elutionsgefäße (ET) in erste Reihe stellen. ENT = Nächster Schritt; ESC = Zurück
28	Benutzerführung	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ENT: Next, ESC: Back	Pipettenspitzenhalter mit Filter-Pipettenspitzen in zweite Reihe stellen. ENT = Nächster Schritt; ESC = Zurück

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 6. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced XL Meldungstext	Erläuterung
29	Benutzerführung	Load 2ml tubes with 1800ul 80% EtOH into third row ENT: Next, ESC: Back	2-ml-Reaktionsgefäße Pipettenspitzenhalter mit 1800 µl 80%iges EtOH in dritte Reihe stellen. ENT = Nächster Schritt; ESC = Zurück
30	Benutzerführung	Load 2ml tubes (ST) with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back	2-ml-Reaktionsgefäße (ST) mit Proben in vierte Reihe stellen. ENT = Nächster Schritt; ESC = Zurück
31	Benutzerführung	Loading finished Close door and press START ESC: Back	Einrichten der Arbeitsplattform beendet. Gerätetür schließen und „START“-Taste drücken. ESC = Zurück
32	Benutzerführung	Please close door! ENT: Next	Bitte Gerätetür schließen! ENT = Nächster Schritt
33	Statusmeldung	Protocol started	Protokoll gestartet.
34	Statusmeldung	Piercing foil [x] of [x] min left	Folie wird durchstoßen. Noch [x] von [x] Minuten.
35	Statusmeldung	Collecting Elution Buffer [x] of [x] min left	Elutionspuffer wird pipettiert. Noch [x] von [x] Minuten.
36	Statusmeldung	Deliver at heat block [x] of [x] min left	Pipettieren des Elutionspuffers in die im Heizblock befindlichen Wells. Noch [x] von [x] Minuten.
37	Statusmeldung	Collecting Beads [x] of [x] min left	Magnet-Partikel werden pipettiert. Noch [x] von [x] Minuten.
38	Statusmeldung	Resuspension of Beads [x] of [x] min left	Magnet-Partikel werden resuspendiert. Noch [x] von [x] Minuten.

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 6. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced XL Meldungstext	Erläuterung
39	Statusmeldung	Collecting Lysis Buffer [x] of [x] min left	Zugabe des Lysepuffers. Noch [x] von [x] Minuten.
40	Statusmeldung	Mixing Lysate [x] of [x] min left	Lysat wird gemischt. Noch [x] von [x] Minuten.
41	Statusmeldung	Collecting Beads [x] of [x] min left	Pipettieren der Magnet- Partikel. Noch [x] von [x] Minuten.
42	Statusmeldung	DNA binding to Beads Magnetic separation [x] of [x] min left	Bindung der DNA an die Magnet-Partikel. Noch [x] von [x] Minuten.
43	Statusmeldung	Wash 1 Magnetic separation [x] of [x] min left	1. Waschen der Magnet- Partikel. Noch [x] von [x] Minuten.
44	Statusmeldung	Wash 2 Magnetic separation [x] of [x] min left	2. Waschen der Magnet- Partikel. Noch [x] von [x] Minuten.
45	Statusmeldung	Wash 3 Magnetic separation [x] of [x] min left	3. Waschen der Magnet- Partikel. Noch [x] von [x] Minuten.
46	Statusmeldung	Wash 4 Magnetic separation [x] of [x] min left	4. Waschen der Magnet- Partikel. Noch [x] von [x] Minuten.
47	Statusmeldung	Rinse [x] of [x] min left	Spülvorgang. Noch [x] von [x] Minuten.
48	Statusmeldung	Check Temp. Set: Cur: [x] of [x] min left	Temperatur wird überprüft. Soll: °C Ist: °C Noch [x] von [x] Minuten.
49	Statusmeldung	Elution [x] of [x] min left	Elution. Noch [x] von [x] Minuten.
50	Benutzerführung	Protocol finished! ENT: Next	Protokoll beendet! ENT = Nächster Schritt

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 6. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced XL Meldungstext	Erläuterung
51	Statusmeldung	Transferring report file Attempt no.	Übertragen der Reportdatei, Versuch Nr.
52	keine		
keine	Benutzerführung	SEND REPORT Print out o.k.? 1: o.k. 2: not o.k. ESC:Back	Übertragung der Reportdatei Ausdruck o.k.? 1 = o.k. 2 = nicht o.k. ESC = Zurück
53	Statusmeldung	Report file sent ENT: Next	Reportdatei übertragen. ENT = Nächster Schritt
54	Statusmeldung	Report file could not be sent ENT: Resend	Reportdatei konnte nicht übertragen werden. ENT = Erneut abschicken
55	Benutzerführung	Perform UV run? ENT: Yes, ESC: No	UV-Dekontaminationslauf durchführen? ENT = Ja; ESC = Nein
56	Benutzerführung	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next	Eluate und Verbrauchsartikel von Arbeitsplattform entnehmen. ENT = Nächster Schritt
57	Benutzerführung	UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next	Lebensdauer UV-Lampe läuft bald ab. Restliche UV-Dekontaminationsläufe: ENT = Nächster Schritt
58	Benutzerführung	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort	UV-Lampe abgelaufen. ENT = Nächster Schritt ESC = Abbruch
59	Benutzerführung	UV decontamination. Enter 20 to 60 ENT: Next	UV-Dekontamination Zeit 20 bis 60 Min. eingeben ENT = Nächster Schritt
60	Benutzerführung	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back	UV-Dekontaminationszeit muss zwischen 20 und 60 Minuten sein. ESC = Zurück

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 6. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced XL Meldungstext	Erläuterung
61	Benutzerführung	UV lamp did not ignite! ESC: Back	UV-Lampe hat nicht gezündet! ESC = Zurück
62	Benutzerführung	UV decontamination Total time: min Time left: min	UV-Dekontamination Gesamtzeit: Minuten Restl. Zeit: Minuten
63	Statusmeldung	Decontamination UV lamps cooling Please stand by	Dekontaminations-UV- Lampen kühlen ab. Bitte bereithalten.
64	Benutzerführung	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu	Nach jedem Protokolllauf reguläre Wartung durchführen! ESC = Zum Hauptmenü

Tabelle 7. Systemmeldungen beim DNA-Blut-Protokoll auf dem EZ1 Advanced (mit V2.0-Karte)

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced (V2.0) Meldungstext	Erläuterung
keine	Benutzerführung	Date/Time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4	Datum/Uhrzeit START: Starten des Laufs. 1: UV-Dekontamination 2: Manuell 3: Test-Menü 4: Setup-Menü Tasten: START, 1, 2, 3, 4
1	Benutzerführung	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Version 2.0	Startmeldung mit Versions-Nr. des Protokolls.
2	Datenverfolgbarkeit	Enter user ID ENT: Next	Anwender-Kennung eingeben/scannen. ENT = Nächster Schritt
3	Datenverfolgbarkeit	Enter Q-Card bar code ENT: Next	Barcode der Q-Card eingeben/scannen. ENT = Nächster Schritt
4	Benutzerführung	Wrong kit! Please load EZ1 DSP DNA Blood kit ENT: back	Falscher Kit! Bitte EZ1 DSP DNA Blood Kit verwenden. ENT = Zurück
5	Benutzerführung	Kit expired! MMYY: ENT: Use new kit ESC: Stop protocol	Haltbarkeitsdatum abgelaufen. (Angabe in) MMJJ: ENT = Neuen Kit verwenden ESC = Protokolllauf abbrechen
6	Datenverfolgbarkeit	Use Q-Card data with sample 1 to [X] Enter 1 to 6 ENT: Next	Q-Card-Daten mit Probe Nr. 1 bis [X] verwenden. Anzahl 1 bis 6 eingeben ENT = Nächster Schritt
7	Benutzerführung	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: No	Möchten Sie weitere Proben mit einer anderen Kit-Charge verarbeiten? ENT = Ja; ESC = Nein

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 7. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced (V2.0) Meldungstext	Erläuterung
8	Datenverfolgbarkeit	Do you want to add sample IDs? ENT: Yes, ESC: No	Möchten Sie die Proben-ID hinzufügen? ENT = Ja, ESC = Nein
9	Datenverfolgbarkeit	Enter sample ID for sample no. [x] ENT: Next	Proben-ID von Probe Nr. [x] eingeben/scannen. ENT = Nächster Schritt
10	Datenverfolgbarkeit	Do you want to check sample IDs? ENT: Yes, ESC: No	Möchten Sie die Proben-IDs prüfen? ENT = Ja; ESC = Nein
11	Datenverfolgbarkeit	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next	ID 1: ID 2: ID 3: Nächste = Pfeiltaste n. UNTEN
12	Datenverfolgbarkeit	ID 4: ID 5: ID 6: ENT:Next; ESC:Rescan	ID 4: ID 5: ID 6: ENT = Nächster Schritt; ESC = Erneut Scannen
13	keine		
14	keine		
15	keine		
16	Datenverfolgbarkeit	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No	Möchten Sie Assay-Informationen hinzufügen? ENT = Ja; ESC = Nein
17	Datenverfolgbarkeit	Scan/enter assay ID sample no. [x] ENT: Next	Assay-ID von Probe Nr. [x] eingeben/scannen. ENT = Nächste
18	Datenverfolgbarkeit	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes, ESC: No	Möchten Sie die Assay-IDs prüfen? ENT = Ja; ESC = Nein
19	Datenverfolgbarkeit	Do you want to add notes? ENT: Yes, ESC: No	Möchten Sie Notizen hinzufügen? ENT = Ja; ESC = Nein

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 7. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced (V2.0) Meldungstext	Erläuterung
20	Datenverfolgbarkeit	Enter notes for sample no. [x] ENT: Next	Notizen zu Probe Nr. [x] eingeben/scannen. ENT = Nächste
21	Datenverfolgbarkeit	Do you want to check notes? ENT: Yes, ESC: No	Möchten Sie die Notizen prüfen? ENT = Ja; ESC = Nein
22	Benutzerführung	Select protocol 1: 200ul DSP Blood 2: 350ul DSP Blood Choose 1 or 2	Wählen Sie das Protokoll (Probenvolumen). 1 = 200 µl Blut 2 = 350 µl Blut Ziffern-Taste „1“ oder „2“ drücken.
23	Benutzerführung	Select elution volume: 1: 50ul 2: 100ul 3: 200ul	Wählen Sie das Elutionsvolumen. 1 = 50 µl 2 = 100 µl 3 = 200 µl
24	Benutzerführung	Pure ethanol wash? 1: No 2: Yes Choose 1 or 2	Waschschritte mit reinem Ethanol durchführen? 1 = Nein 2 = Ja Ziffern-Taste „1“ oder „2“ drücken.
25	Benutzerführung	You have chosen: [xxx]ul blood, EtOH [xxx]ul elution ENT: Next, ESC: Back	Anzeige Ihrer Auswahl: Probenvolumen: [xxx] µl Blut; EtOH; Elutionsvolumen: [xxx] µl ENT = Nächster Schritt; ESC = Zurück
26	Benutzerführung	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back	Reagenzienkartuschen in gleiche Positionen wie die zu verarbeitenden Proben laden. ENT = Nächster Schritt; ESC = Zurück
27	Benutzerführung	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row ENT: Next, ESC: Back	1,5-ml-Elutionsgefäße (ET) in erste Reihe stellen. ENT = Nächster Schritt; ESC = Zurück

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 7. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced (V2.0) Meldungstext	Erläuterung
28	Benutzerführung	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ENT: Next, ESC: Back	Pipettenspitzenhalter mit Filter-Pipettenspitzen in zweite Reihe stellen. ENT = Nächster Schritt; ESC = Zurück
29	Benutzerführung	Load 2ml tubes with 1800ul 80% EtOH into third row ENT: Next, ESC: Back	2-ml-Reaktionsgefäße Pipettenspitzenhalter mit 1800 µl 80%iges EtOH in dritte Reihe stellen. ENT = Nächster Schritt; ESC = Zurück
30	Benutzerführung	Load 2ml tubes (ST) with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back	2-ml-Reaktionsgefäße (ST) mit Proben in vierte Reihe stellen. ENT = Nächster Schritt; ESC = Zurück
31	Benutzerführung	Loading finished Close door and press START ESC: Back	Einrichten der Arbeitsplattform beendet. Gerätetür schließen und „START“-Taste drücken. ESC = Zurück
32	Benutzerführung	Please close door! ENT: Next	Bitte Gerätetür schließen! ENT = Nächster Schritt
33	Statusmeldung	Protocol started	Protokoll gestartet.
34	Statusmeldung	Piercing foil [x] of [x] min left	Folie wird durchstoßen. Noch [x] von [x] Minuten.
35	Statusmeldung	Collecting Elution Buffer [x] of [x] min left	Elutionspuffer wird pipettiert. Noch [x] von [x] Minuten.
36	Statusmeldung	Deliver at heat block [x] of [x] min left	Pipettieren des Elutionspuffers in die im Heizblock befindlichen Wells. Noch [x] von [x] Minuten.
37	Statusmeldung	Collecting Beads [x] of [x] min left	Magnet-Partikel werden pipettiert. Noch [x] von [x] Minuten.

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 7. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced (V2.0) Meldungstext	Erläuterung
38	Statusmeldung	Resuspension of Beads [x] of [x] min left	Magnet-Partikel werden resuspendiert. Noch [x] von [x] Minuten.
39	Statusmeldung	Collecting Lysis Buffer [x] of [x] min left	Zugabe des Lysepuffers. Noch [x] von [x] Minuten.
40	Statusmeldung	Mixing Lysate [x] of [x] min left	Lysat wird gemischt. Noch [x] von [x] Minuten.
41	Statusmeldung	Collecting Beads [x] of [x] min left	Pipettieren der Magnet-Partikel. Noch [x] von [x] Minuten.
42	Statusmeldung	DNA binding to Beads Magnetic separation [x] of [x] min left	Bindung der DNA an die Magnet-Partikel. Noch [x] von [x] Minuten.
43	Statusmeldung	Wash 1 Magnetic separation [x] of [x] min left	1. Waschen der Magnet-Partikel. Noch [x] von [x] Minuten.
44	Statusmeldung	Wash 2 Magnetic separation [x] of [x] min left	2. Waschen der Magnet-Partikel. Noch [x] von [x] Minuten.
45	Statusmeldung	Wash 3 Magnetic Separation [x] of [x] min left	3. Waschen der Magnet-Partikel. Noch [x] von [x] Minuten.
46	Statusmeldung	Wash 4 Magnetic separation [x] of [x] min left	4. Waschen der Magnet-Partikel. Noch [x] von [x] Minuten.
47	Statusmeldung	Rinse [x] of [x] min left	Spülvorgang. Noch [x] von [x] Minuten.
48	Statusmeldung	Check Temp. Set: Cur: [x] of [x] min left	Temperatur wird überprüft. Soll: °C Ist: °C Noch [x] von [x] Minuten.

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 7. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced (V2.0) Meldungstext	Erläuterung
49	Statusmeldung	Elution [x] of [x] min left	Elution. Noch [x] von [x] Minuten.
50	Benutzerführung	Protocol finished! ENT: Next	Protokoll beendet! ENT = Nächster Schritt
51	Statusmeldung	Transferring report file Attempt no.	Übertragen der Reportdatei, Versuch Nr.
52	keine		
keine	Benutzerführung	SEND REPORT Print out o.k? 1=o.k 2=not o.k Key: 1, 2, ESC	Übertragung der Reportdatei Ausdruck o.k.? 1 = o.k. 2 = nicht o.k. Tasten: 1, 2, ESC
53	Statusmeldung	Report file sent ENT: Next	Reportdatei übertragen. ENT = Nächster Schritt
54	Statusmeldung	Report file could not be sent ENT: Resend	Reportdatei konnte nicht übertragen werden. ENT = Erneut abschicken
55	Benutzerführung	Perform UV run? ENT: Yes, ESC: No	UV-Dekontaminationslauf durchführen? ENT = Ja; ESC = Nein
56	Benutzerführung	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next	Eluate und Verbrauchsartikel von Arbeitsplattform entnehmen. ENT = Nächster Schritt
57	Benutzerführung	UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next	Lebensdauer UV-Lampe läuft bald ab. Restliche UV-Dekonta- minationsläufe: ENT = Nächster Schritt
58	Benutzerführung	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort	UV-Lampe abgelaufen. ENT = Nächster Schritt ESC = Abbruch
59	Benutzerführung	UV decontamination. Enter 20 to 60 ENT: Next	UV-Dekontamination Zeit 20 bis 60 Min. eingeben ENT = Nächster Schritt

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 7. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced (V2.0) Meldungstext	Erläuterung
60	Benutzerführung	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back	UV-Dekontaminationszeit muss zwischen 20 und 60 Minuten sein. ESC = Zurück
61	Benutzerführung	UV lamp did not ignite! ESC: Back	UV-Lampe hat nicht gezündet! ESC = Zurück
62	Benutzerführung	UV decontamination Total time: min Time left: min	UV-Dekontamination Gesamtzeit: Minuten Restl. Zeit: Minuten
63	Statusmeldung	Decontamination UV lamps cooling Please stand by	Dekontaminations-UV-Lampen kühlen ab. Bitte bereithalten.
64	Benutzerführung	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu	Nach jedem Protokolllauf reguläre Wartung durchführen! ESC = Zum Hauptmenü

Tabelle 8. Systemmeldungen beim DNA-Blut-Protokoll auf dem EZ1 Advanced (mit V1.0-Karte)

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced (V1.0) Meldungstext	Erläuterung
keine	Benutzerführung	Date/Time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4	Datum/Uhrzeit START: Starten des Laufs. 1: UV-Dekontamination 2: Manuell 3: Test-Menü 4: Setup-Menü Tasten: START, 1, 2, 3, 4
1	Benutzerführung	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Version 1.0	Startmeldung mit Versions-Nr. des Protokolls.
2	Datenverfolgbarkeit	Scan/enter user ID	Anwender-Kennung eingeben/scannen.
3	Datenverfolgbarkeit	Scan/enter Q-Card barcode	Barcode der Q-Card eingeben/scannen.
4	Benutzerführung	Wrong kit! Please load EZ1 DSP DNA Blood ENT: back	Falscher Kit! Bitte EZ1 DSP DNA Blood Kit verwenden. ENT = Zurück
5	Benutzerführung	Kit expired ENT: Use new kit ESC: Stop protocol	Haltbarkeitsdatum abgelaufen. ENT = Neuen Kit verwenden ESC = Protokolllauf abbrechen
6	Datenverfolgbarkeit	Use Q-Card data with sample no. 1 to Enter 1 to 6	Q-Card-Daten mit Probe Nr. 1 bis verwenden. Anzahl 1 bis 6 eingeben
7	Benutzerführung	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: No	Möchten Sie weitere Proben mit einer anderen Kit-Charge verarbeiten? ENT = Ja; ESC = Nein
8	Datenverfolgbarkeit	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No	Möchten Sie die Proben-ID hinzufügen? ENT = Ja ESC = Nein
9	Datenverfolgbarkeit	Scan/enter sample ID sample no. [x]	Proben-ID von Probe Nr. [x] eingeben/scannen.

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 8. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced (V1.0) Meldungstext	Erläuterung
10	Datenverfolgbarkeit	ID1: ID2: ID3: Next=ENT	ID1: ID2: ID3: ENT = Nächste
11	Datenverfolgbarkeit	ID4: ID5: ID6: Next=ENT, ID1-3=Up	ID4: ID5: ID6: ENT = Nächster Schritt; ID1-3 = Pfeiltaste n. oben
12	Datenverfolgbarkeit	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No	Möchten Sie Assay-Informationen hinzufügen? ENT = Ja; ESC = Nein
13	Datenverfolgbarkeit	Scan/enter assay ID sample no. [x]	Assay-ID von Probe Nr. [x] eingeben/scannen.
14	Datenverfolgbarkeit	Do you want to add notes? ENT: Yes, ESC: No	Möchten Sie Notizen hinzufügen? ENT = Ja; ESC = Nein
15	Datenverfolgbarkeit	Scan/enter notes sample no. [x]	Notizen zu Probe Nr. [x] eingeben/scannen
16	Benutzerführung	The protocol use Sample Volume: 350ul Elution Volume: 200ul Next=Any	Anzeige der beim Protokoll verwendeten Volumina: Probenvolumen: 350 µl Elutionsvolumen: 200 µl Zum nächsten Schritt: mit beliebiger Taste
17	Benutzerführung	Load cartridges at same positions as samples Next=Any, Prev=Esc	Reagenzienkartuschen in gleiche Positionen wie die zu verarbeitenden Proben laden. Zum nächsten Schritt: mit beliebiger Taste; voriger Schritt = ESC
18	Benutzerführung	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row Next=Any, Prev=Esc	1,5-ml-Elutionsgefäße (ET) in erste Reihe stellen. Zum nächsten Schritt: mit beliebiger Taste; voriger Schritt = ESC

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 8. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced (V1.0) Meldungstext	Erläuterung
19	Benutzerführung	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=Esc	Pipettenspitzenhalter mit Filter-Pipettenspitzen in zweite Reihe stellen. Zum nächsten Schritt: mit beliebiger Taste; voriger Schritt = ESC
20	Benutzerführung	Leave third row empty Next=Any, Prev=Esc	Dritte Reihe leer lassen. Zum nächsten Schritt: mit beliebiger Taste; voriger Schritt = ESC
21	Benutzerführung	Load 2.0 ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev=Esc	2-ml-Reaktionsgefäße (ST) mit Proben in vierte Reihe stellen. Zum nächsten Schritt: mit beliebiger Taste; voriger Schritt = ESC
22	Benutzerführung	Loading finished. Close door and press START Prev=Esc	Einrichten der Arbeitsplattform beendet. Gerätetür schließen und „START“-Taste drücken. voriger Schritt = ESC
23	Benutzerführung	Please close door!	Bitte Gerätetür schließen!
24	Statusmeldung	Protocol started	Protokoll gestartet.
25	Statusmeldung	Piercing Foil [x] of 23 min left	Folie wird durchstoßen. Noch [x] von 23 Minuten.
26	Statusmeldung	Collecting Elution Buffer [x] of 23 min left	Elutionspuffer wird pipettiert. Noch [x] von 23 Minuten.
27	Statusmeldung	Deliver at Heat Block [x] of 23 min left	Pipettieren des Elutionspuffers in die im Heizblock befindlichen Wells. Noch [x] von 23 Minuten.
28	Statusmeldung	Collecting Magnetic Beads [x] of 23 min left	Magnet-Partikel werden pipettiert. Noch [x] von 23 Minuten.
29	Statusmeldung	Resuspension of Magnetic Beads [x] of 23 min left	Magnet-Partikel werden resuspendiert. Noch [x] von 23 Minuten.

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 8. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced (V1.0) Meldungstext	Erläuterung
30	Statusmeldung	Adding Lysis Buffer [x] of 23 min left	Zugabe des Lysepuffers. Noch [x] von 23 Minuten.
31	Statusmeldung	Mixing Lysate [x] of 23 min left	Lysat wird gemischt. Noch [x] von 23 Minuten.
32	Statusmeldung	Adding Magnetic Beads [x] of 23 min left	Zugabe der Magnet-Partikel. Noch [x] von 23 Minuten.
33	Statusmeldung	DNA binding to Magnetic Beads Magnetic separation [x] of 23 min left	Bindung der DNA an die Magnet-Partikel. Noch [x] von 23 Minuten.
34	Statusmeldung	Wash 1 Magnetic separation [x] of 23 min left	1. Waschen der Magnet-Partikel. Noch [x] von 23 Minuten.
35	Statusmeldung	Wash 2 Magnetic separation [x] of 23 min left	2. Waschen der Magnet-Partikel. Noch [x] von 23 Minuten.
36	Statusmeldung	Wash 3 Magnetic separation [x] of 23 min left	3. Waschen der Magnet-Partikel. Noch [x] von 23 Minuten.
37	Statusmeldung	Wash 4 Magnetic separation [x] of 23 min left	4. Waschen der Magnet-Partikel. Noch [x] von 23 Minuten.
38	Statusmeldung	Rinse [x] of 23 min left	Spülvorgang. Noch [x] von 23 Minuten.
39	Statusmeldung	Checking Temperature Set: Cur:	Temperatur wird überprüft. Soll: °C Ist: °C
40	Statusmeldung	Elution [x] of 23 min left	Elution. Noch [x] von 23 Minuten.
41	Benutzerführung	Protocol finished	Protokoll beendet!
42	Datenverfolgbarkeit	Transfer Report file, attempt no.	Übertragen der Reportdatei, Versuch Nr.

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 8. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	EZ1 Advanced (V1.0) Meldungstext	Erläuterung
43	Benutzerführung	Report file sent Next=ENT	Reportdatei übertragen. Nächster Schritt = ENT
44	Benutzerführung	Report file could not be sent Resend=ENT	Reportdatei konnte nicht übertragen werden. Erneut abschicken = ENT
45	Benutzerführung	Perform UV run? ENT: Yes, ESC: No	UV-Dekontaminationslauf durchführen? ENT = Ja; ESC = Nein
46	Benutzerführung	UV DECONTAMINATION Set time min Key:0-9, ENT	UV-DEKONTAMINATION Zeit einstellen: Minuten Tasten: 0 bis 9; dann: ENT
47	Benutzerführung	UV lamp expires soon UV runs left ENT= continue	Lebensdauer UV-Lampe läuft bald ab. Restliche UV-Dekontaminationsläufe: ENT = Nächster Schritt
48	Benutzerführung	UV lamp is expired ENT=continue ESC=abort	UV-Lampe abgelaufen. ENT = Nächster Schritt ESC = Abbruch
49	Benutzerführung	UV DECONTAMINATION Time must be between 20-60 min Key:ESC	UV-DEKONTAMINATION Zeit muss zwischen 20 und 60 Minuten sein. Taste: ESC
50	Benutzerführung	UV DECONTAMINATION Total Time: min Time left: min	UV-DEKONTAMINATION Gesamtzeit: Minuten Restl. Zeit: Minuten
51	Benutzerführung	Decontamination UV lamp cooling Please stand by	Dekontaminations-UV-Lampe kühlt ab. Bitte bereithalten
52	Benutzerführung	Perform regular maintenance before next run! ESC=Main menu	Vor nächstem Protokolllauf reguläre Wartung durchführen! Zum Hauptmenü = ESC-Taste

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 9. Systemmeldungen beim DNA-Blut-Protokoll auf dem BioRobot EZ1 DSP

Meldung Nr.	Art der Meldung	BioRobot EZ1 DSP Meldungstext	Erläuterung
keine	Benutzerführung	Choose button: START: Protocols 1 : Tools 2 : Tests	Zum Starten eines Protokolls „START“ drücken: 1 : Tools-Menü 2 : Test-Menü
1	Benutzerführung	EZ1 DSP DNA Blood Version 1.0.0	Startmeldung mit Versions-Nr. des Protokolls
2	Benutzerführung	The protocol uses Sample Volume: [SampleVolume]ul Elution volume: [ElutionVolume]ul Next=Any	Anzeige der beim Protokoll verwendeten Volumina: Probenvolumen (in μ l) Elutionsvolumen (in μ l) Zum nächsten Schritt: mit beliebiger Taste
3	Benutzerführung	Load sufficient cartridges (RCB) for samples Next=Any, Prev=ESC	Laden Sie genügend Reagenzienkartuschen für die Anzahl der zu verarbeitenden Proben. Zum nächsten Schritt: mit beliebiger Taste; voriger Schritt = ESC
4	Benutzerführung	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row Next=Any, Prev=ESC	1,5-ml-Elutionsgefäße (ET) in erste Reihe stellen. Zum nächsten Schritt: mit beliebiger Taste; voriger Schritt = ESC
5	Benutzerführung	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=ESC	Pipettenspitzenhalter mit Filter-Pipettenspitzen in zweite Reihe stellen. Zum nächsten Schritt: mit beliebiger Taste; voriger Schritt = ESC
6	Benutzerführung	Leave third row empty Next=Any, Prev=ESC	Lassen Sie die dritte Reihe leer. Zum nächsten Schritt: mit beliebiger Taste; voriger Schritt = ESC

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 9. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	BioRobot EZ1 DSP Meldungstext	Erläuterung
7	Benutzerführung	Load 2.0ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev=ESC	2-ml-Reaktionsgefäße (ST) mit Proben in vierte Reihe stellen. Zum nächsten Schritt: mit beliebiger Taste; voriger Schritt = ESC
8	Benutzerführung	Start protocol Press START Prev=ESC	Zum Starten des Protokolls „START“ drücken. Voriger Schritt = ESC
9	Statusmeldung	Protocol started	Protokoll gestartet.
10	Statusmeldung	Piercing Foil	Folie wird durchstoßen.
11	Statusmeldung	Collecting Elution Buffer	Elutionspuffer wird pipettiert.
12	Statusmeldung	Deliver at Heat Block	Pipettieren des Elutionspuffers in die im Heizblock befindlichen Wells.
13	Statusmeldung	Collecting Magnetic Beads	Magnet-Partikel werden pipettiert.
14	Statusmeldung	Resuspension of Magnetic Beads	Magnet-Partikel werden resuspendiert.
15	Statusmeldung	Adding Lysis Buffer	Zugabe des Lysepuffers.
16	Statusmeldung	Mixing Lysate	Lysat wird gemischt.
17	Statusmeldung	Adding Magnetic Beads	Zugabe der Magnet-Partikel.
18	Statusmeldung	DNA binding to Magnetic Beads Magnetic Separation	Bindung der DNA an die Magnet-Partikel.
19	Statusmeldung	Wash 1 Magnetic Separation	1. Waschen der Magnet-Partikel.
20	Statusmeldung	Wash 2 Magnetic Separation	2. Waschen der Magnet-Partikel.
21	Statusmeldung	Wash 3 Magnetic Separation	3. Waschen der Magnet-Partikel.
22	Statusmeldung	Wash 4 Magnetic Separation	4. Waschen der Magnet-Partikel.
23	Statusmeldung	Rinse	Spülvorgang.

(Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite)

Tabelle 9. Fortsetzung

Meldung Nr.	Art der Meldung	BioRobot EZ1 DSP Meldungstext	Erläuterung
24	Statusmeldung	Checking Temperature Set: 65 [deg] Cur: [deg]	Temperatur wird überprüft. Soll: 65 °C Ist: °C
25	Statusmeldung	Elution	Elution.
26	Benutzerführung	Protocol finished! Press ESC to return to Menu	Protokoll beendet! ESC-Taste drücken, um zum Menü zurückzukehren.

Anhang B: Lagerung, Bestimmung von Konzentration, Ausbeute und Reinheit der DNA

Lagerung der DNA

Die gereinigte DNA kann bei 2–8 °C oder bei –20 °C für bis zu 24 Monate gelagert werden. Für die Langzeit-Archivierung der DNA-Proben sollten die Eluate bei –70 °C eingelagert werden.

Bestimmung von Konzentration und Ausbeute an DNA

Die DNA-Konzentration und -Ausbeute sollte über die fotometrische Messung der Absorption im Eluat bei 260 nm (A_{260}) bestimmt werden. Die Absorptionswerte bei 260 nm sollten zwischen 0,1 und 1,0 liegen, um eine möglichst genaue Messung zu erhalten. Eine Absorptionseinheit bei 260 nm entspricht einer Konzentration von 50 µg DNA pro ml ($A_{260}=1 \rightarrow 50 \mu\text{g/ml}$). Verwenden Sie einen Puffer mit neutralem pH (z.B. 10 mM Tris·Cl, pH 7,0*) um die Proben ggf. zu verdünnen und das Spektralfotometer zu kalibrieren.† Eine eventuelle Verschleppung von Magnet-Partikeln im Eluat kann den A_{260} -Absorptionswert beeinflussen, sollte aber die Funktionalität der DNA in anschließend durchgeführten Applikationen nicht beeinträchtigen. Wenn die gereinigte DNA in einem Kapillargel-Sequencer unter Verwendung von fluoreszenzmarkierten Primern analysiert werden soll, sollte das Reaktionsgefäß mit dem Eluat erst in einen geeigneten magnetischen Separator (zur Abtrennung der Magnet-Partikel) gestellt werden und das Eluat anschließend in ein sauberes Reaktionsgefäß überführt werden (siehe unten).

Gehen Sie bei der Quantifizierung der mit dem EZ1 System gereinigten DNA wie folgt vor:

- Stellen Sie das Reaktionsgefäß mit der DNA für 1 min in einen geeigneten magnetischen Separator (z.B. den QIAGEN 12-Tube Magnet, Kat.-Nr. 36912). Falls kein geeigneter magnetischer Separator verfügbar ist, zentrifugieren Sie das Reaktionsgefäß mit der DNA für 1 min bei maximaler Drehzahl in einer Mikrozentrifuge, um eventuell vorhandene Magnet-Partikel zu sedimentieren.
- Pipettieren Sie nach Abschluss der magnetischen Separation vorsichtig 10–50 µl der gereinigten DNA-Lösung in neue Reaktionsgefäße und

* Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Einmal-Handschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheits-Datenblättern (Safety Data Sheets, SDSs) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

† Falls Sie unverdünnte Proben messen, verwenden Sie Wasser zum Kalibrieren des Spektralfotometers.

verdünnen Sie sie mit einem geeigneten neutralen Puffer auf ein Endvolumen von 100 μ l.

- Messen Sie die Absorption bei 320 nm und 260 nm. Ziehen Sie den Absorptionswert bei 320 nm von dem bei 260 nm erhaltenen Wert ab, um so die Konzentrationsbestimmung um eventuell vorhandene Reste an Magnet-Partikeln zu korrigieren.

Konzentration der DNA-Probe = $50 \mu\text{g/ml} \times (A_{260} - A_{320}) \times \text{Verdünnungsfaktor}$
Gesamtmenge an isolierter DNA = Konzentration x Probenvolumen (in ml)

Reinheit der DNA

Die Reinheit wird über das Verhältnis der korrigierten Absorption bei 260 nm zur korrigierten Absorption bei 280 nm bestimmt, d.h. sie entspricht dem Quotienten $(A_{260} - A_{320}) / (A_{280} - A_{320})$. Reine DNA hat ein Absorptionsverhältnis $(A_{260} - A_{320}) / (A_{280} - A_{320})$ von 1,7–1,9. Verwenden Sie einen neutralen bis leicht alkalischen Puffer (z.B. 10 mM Tris·Cl, pH 7,5), um die Proben ggf. zu verdünnen und das Spektrofotometer zu kalibrieren.* Falls Sie unverdünnte Proben messen, verwenden Sie Wasser zum Kalibrieren des Spektrofotometers.

* Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Einmal-Handschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheits-Datenblättern (Safety Data Sheets, SDSs) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

Anhang C: Probenblatt zur Verwendung mit dem EZ1 DSP DNA Blood System

Das folgende Probenblatt kann als Vorlage für die Dokumentation der Nukleinsäure-Reinigung nach dem EZ1 DSP DNA-Blut-Protokoll dienen. Sie können das Blatt fotokopieren und dann die Probenbezeichnungen und weitere Lauf-Parameter darin eintragen.

EZ1 DSP DNA Blood System

Datum/ Uhrzeit: _____ **Kit-Charge (Lot no.):** _____

BEDIENER: _____ **Lauf-Nr.:** _____

Geräte-Serienr.: _____

Position auf Arbeits-plattform	Proben-Kennung:	Probenmaterial	RCB vorhanden?	ST vorhanden?	ET vorhanden?	DTH mit DFT vorhanden?
1 (links)						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14 (rechts)						

Anhang D: Beispiel einer EZ1 Advanced Reportdatei

In diesem Anhang ist eine typische Reportdatei, wie sie vom EZ1 Advanced erzeugt wird, wiedergegeben. Die Werte der einzelnen Parameter weichen dabei von denen in den Reportdateien, die von Ihrem EZ1 Advanced generiert werden, ab. Der EZ1 Advanced XL erstellt Reportdateien mit ähnlichen Geräte- und Protokollinformationen – lediglich die Anzahl der Kanäle ist unterschiedlich.

Report File EZ1 Advanced:

Serial No. EZ1 Advanced:,"6987"

User ID:,"555"

Firmware version:,"V 1.0.0"

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

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

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

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

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

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

Status of last UV-run:,"o.k."

Protocol name:,"DSP DNA Blood Version 2.0"

,"DSP DNA Blood 350"

Date of run:,"Aug 05, 2009"

Start of run:,"07:58"

End of run:,"08:28"

Status run:,"o.k"

Error Code:,"---"

Sample input Volume [ul]:," 350"

Elution volume [ul]:," 200"

Channel A:

Sample ID:,"1"

Reagent Kit number:,"9900801"

Reagent Lot number:,"0133203571"

Reagent Expiry date:,"1209"

Assay Kit ID:,"1"

Note:,"1"

Channel B:

Sample ID:,"2"

Reagent Kit number:,"9900801"

Reagent Lot number:,"0133203571"

Reagent Expiry date:,"1209"

Assay Kit ID:,"2"

Note:,"2"

Channel C:

Sample ID:,"3"

Reagent Kit number:,"9900801"

Reagent Lot number:,"0133203571"

Reagent Expiry date:,"1209"

Assay Kit ID:,"3"

Note:,"3"

Channel D:
Sample ID;,"4"
Reagent Kit number;,"9900801"
Reagent Lot number;,"0133203571"
Reagent Expiry date;,"1209"
Assay Kit ID;,"4"
Note;,"4"

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

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

[Checksum A0C47444]

Bestellinformationen

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
EZ1 DSP DNA Blood Kit (48)	Für 48 DNA-Präparationen: gefüllte Reagenzienkartuschen, Einmalpipettenspitzen-Halter, Einmal-Pipettenspitzen (mit Filter), Probengefäße, Elutionsgefäße	62124
EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card	Vorprogrammierte Chipkarte für das EZ1 DSP DNA-Blut-Protokoll; zur Verwendung mit dem EZ1 Advanced XL	9018702
EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card	Vorprogrammierte Chipkarte für das EZ1 DSP DNA-Blut-Protokoll; zur Verwendung mit dem EZ1 Advanced	9018305
EZ1 DSP DNA Blood Card	Vorprogrammierte Chipkarte für das EZ1 DSP DNA-Blut-Protokoll; zur Verwendung mit dem BioRobot EZ1 DSP	9017713
EZ1 Advanced XL	Laborgerät für die automatisierte Reinigung von Nukleinsäuren mit den EZ1 Kits aus bis zu 14 Proben gleichzeitig; 1 Jahr Garantie auf alle Teile; Arbeitskosten inklusive.*	9001492

Besuchen Sie unsere Website unter www.qiagen.com/products/assays, um mehr über die Assay-Technologien von QIAGEN zu erfahren!

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Anwendungseinschränkungen finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit- oder Geräte-Handbuch. QIAGEN Kit- und Geräte-Handbücher stehen unter www.qiagen.com zur Verfügung oder können Sie vom QIAGEN Technischen Service oder dem für Sie zuständigen Außendienstmitarbeiter oder Distributor anfordern.

Frei bleibende Seite

Frei bleibende Seite

Warenzeichen/Markennamen: QIAGEN®, artus®, BioRobot®, EZ1®, QuantiTect® (QIAGEN-Gruppe); BD Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); LightCycler® (Roche-Gruppe); Monovette® (Sarstedt AG & Co.); Vacuette® (C.A. Greiner & Söhne GmbH).

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarung

Mit der Nutzung dieses Produkts erkennen Käufer und Anwender des EZ1 DSP DNA Blood Kits die folgenden Bedingungen an:

1. Der EZ1 DSP DNA Blood Kit darf nur gemäß den Angaben im *Handbuch für den EZ1 DSP DNA Blood Kit* und mit den Komponenten, die im Kit geliefert werden, verwendet werden. QIAGEN gewährt im Rahmen ihrer Eigentumsrechte keinerlei Lizenz, die zum Kit gehörenden Komponenten mit anderen Komponenten, die nicht zum Kit gehören, zu verwenden oder zu kombinieren, mit Ausnahme der im *Handbuch für den EZ1 DSP DNA Blood Kit* und in zusätzlichen, unter www.qiagen.com verfügbaren Protokollen beschriebenen Anwendungen.
2. Über die ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen hinaus übernimmt QIAGEN keinerlei Garantie dafür, dass dieser Kit und/oder die mit ihm durchgeführte(n) Anwendung(en) die Rechte Dritter nicht verletzt.
3. Dieser Kit und seine Komponenten sind für die einmalige Verwendung lizenziert und dürfen nicht wiederverwendet, wiederaufgearbeitet oder weiterverkauft werden.
4. QIAGEN lehnt außer der ausdrücklich gewährten Lizenzgewährung jede weitere Lizenzgewährung ab, sowohl ausdrücklich als auch konkludent.
5. Käufer und Anwender des Kits stimmen zu, keinerlei Schritte zu unternehmen oder anderen die Einleitung von Schritten zu gestatten, die zu unerlaubten Handlungen im obigen Sinne führen könnten oder solche erleichtern könnten. QIAGEN kann die Verbote dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung an jedem Ort gerichtlich geltend machen und wird sämtliche Ermittlungs- und Gerichtskosten, inklusive Anwaltsgebühren, zurückfordern, die ihr bei der Geltendmachung dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung oder irgendeines ihrer geistigen Eigentumsrechte im Zusammenhang mit dem Kit und/oder dessen Komponenten entstehen.

Aktualisierte Nutzungs- und Lizenzbedingungen können unter www.qiagen.com nachgelesen werden.

QuantiTect Probe PCR Kit: HINWEIS AN KÄUFER: EINGESCHRÄNKTE LIZENZ

Für eine vollständige Lizenz zur Durchführung des 5'-Nuklease-Prozesses für Forschungszwecke ist ein lizenzierter 5'-Nuklease-Kit (mit lizenzierter Sonde) oder die Kombination aus einem autorisierten 5'-Nuklease-Core-Kit und einer lizenzierten Sonde oder der Erwerb der Lizenzrechte von Applied Biosystems erforderlich. Bei diesem Kit handelt es sich um einen autorisierten 5'-Nuklease-Core-Kit ohne lizenzierte Sonde. Im Kaufpreis für diesen Kit ist eine eingeschränkte, nicht übertragbare Immunität vor gerichtlicher Verfolgung aufgrund der US-Patente 5.210.015, 5.487.972, 5.476.774 und 5.219.727 sowie entsprechender Patentansprüche außerhalb der Vereinigten Staaten, die sich im Besitz von Roche Molecular Systems, Inc. oder F. Hoffmann-La Roche Ltd (Roche) befinden, enthalten. Diese Immunität gilt nur für die Nutzung der vom Käufer für seine eigene interne Forschung erworbenen Menge, wenn diese in Verbindung mit einer separat erworbenen lizenzierten Sonde verwendet wird. Dieses Produkt ist außerdem ein autorisierter 5'-Nuklease-Core-Kit zum Gebrauch mit weiteren Unterlizenzen, die von Applied Biosystems erworben werden können. Weitere Rechte, die unter die US-Patente 5.804.375, 6.214.979, 5.538.848, 5.723.591, 5.876.930, 6.030.787 oder 6.258.569 fallen, werden weder ausdrücklich noch stillschweigend oder durch Verwirkung abgetreten. Hierdurch wird keinerlei Recht, das unter irgendeinen anderen Patentanspruch fällt (wie zum Beispiel die Geräte- oder System-Patentansprüche in US-Patent 6.814.934), und kein Recht zur Durchführung kommerzieller Leistungen jedweder Art – einschließlich der uneingeschränkten Berichterstattung der Ergebnisse der Aktivitäten des Käufers gegen Gebühr oder andere kommerzielle Erwägungen – weder ausdrücklich noch stillschweigend oder durch Verwirkung gewährt. Dieses Produkt darf nur für Forschungszwecke verwendet werden. Sein Einsatz in der Diagnostik erfordert eine separate Lizenz von Roche. Weitere Auskünfte zum Erwerb von Lizenzen erteilt der Director of Licensing, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA.

HB-0252-003 © 2009-2015 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

www.qiagen.com

Australien ■ Bestellungen 03-9840-9800 ■ Fax 03-9840-9888 ■ Technischer Service 1-800-243-066

Belgien ■ Bestellungen 0800-79612 ■ Fax 0800-79611 ■ Technischer Service 0800-79556

Brasilien ■ Bestellungen 0800-557779 ■ Fax 55-11-5079-4001 ■ Technischer Service 0800-557779

China ■ Bestellungen 021-3865-3865 ■ Fax 021-3865-3965 ■ Technischer Service 800-988-0325

Dänemark ■ Bestellungen 80-885945 ■ Fax 80-885944 ■ Technischer Service 80-885942

Deutschland ■ Bestellungen 02103-29-12000 ■ Fax 02103-29-22000 ■ Technischer Service 02103-29-12400

Finnland ■ Bestellungen 0800-914416 ■ Fax 0800-914415 ■ Technischer Service 0800-914413

Frankreich ■ Bestellungen 01-60-920-926 ■ Fax 01-60-920-925 ■ Technischer Service 01-60-920-930 ■ Angebote 01-60-920-928

Hongkong ■ Bestellungen 800 933 965 ■ Fax 800 930 439 ■ Technischer Service 800 930 425

Irland ■ Bestellungen 1800 555 049 ■ Fax 1800 555 048 ■ Technischer Service 1800 555 061

Italien ■ Bestellungen 02-33430 -420 ■ Fax 02-33430-426 ■ Technischer Service 800-787980

Japan ■ Telefon 03-6890-7300 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Technischer Service 03-6890-7300

Kanada ■ Bestellungen 800-572-9613 ■ Fax 800-713-5951 ■ Technischer Service 800-DNA-PREP (800-362-7737)

Luxemburg ■ Bestellungen 8002-2076 ■ Fax 8002-2073 ■ Technischer Service 8002-2067

Mexiko ■ Bestellungen 01-800-7742-639 ■ Fax 01-800-1122-330 ■ Technischer Service 01-800-7742-639

Niederlande ■ Bestellungen 0800-0229592 ■ Fax 0800-0229593 ■ Technischer Service 0800-0229602

Norwegen ■ Bestellungen 800-18859 ■ Fax 800-18817 ■ Technischer Service 800-18712

Österreich ■ Bestellungen 0800/28-10-10 ■ Fax 0800/28-10-19 ■ Technischer Service 0800/28-10-11

Schweden ■ Bestellungen 020-790282 ■ Fax 020-790582 ■ Technischer Service 020-798328

Schweiz ■ Bestellungen 055-254-22-11 ■ Fax 055-254-22-13 ■ Technischer Service 055-254-22-12

Singapur ■ Bestellungen 65-67775366 ■ Fax 65-67785177 ■ Technischer Service 65-67775366

Spanien ■ Bestellungen 91-630-7050 ■ Fax 91-630-5145 ■ Technischer Service 91-630-7050

Südkorea ■ Bestellungen 1544 7145 ■ Fax 1544 7146 ■ Technischer Service 1544 7145

UK ■ Bestellungen 01293-422-911 ■ Fax 01293-422-922 ■ Technischer Service 01293-422-999

USA ■ Bestellungen 800-426-8157 ■ Fax 800-718-2056 ■ Technischer Service 800-DNA-PREP (800-362-7737)

