

TECHNISCHES HANDBUCH

OncoMate™ 5C Matrix Standard

Gebrauchsanweisung für das Produkt
MD3850



GEBRAUCHSANWEISUNG
FÜR DAS PRODUKT
MD3850



Rev. 0
TM597



PROMEGA
2800 Woods Hollow Rd.
Madison, WI USA



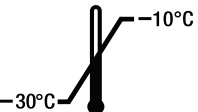












MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Deutschland

OncoMate™ 5C Matrix Standard

1. Produktname.....	3
2. Verwendungszweck.....	3
3. Zusammenfassung und Erläuterung.....	3
4. Testprinzip.....	3
5. Produktkomponenten und Lagerbedingungen.....	4
5.1 Im Lieferumfang enthaltene Materialien.....	4
5.2 Lagerung und Handhabung.....	4
5.3 Nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien.....	5
6. Anforderungen an das Kapillarelektrophorese-Gerät.....	6
7. Vorbereitung des Kapillarelektrophorese-Geräts.....	6
8. Analyse des Matrix Standard.....	6
9. Interpretation der Ergebnisse.....	9
10. Fehlerbehebung.....	10
11. Verwandte Produkte.....	12

Erklärung der Symbole

Symbol	Erklärung	Symbol	Erklärung
	In-vitro-Diagnostikum		Chargennummer
	Bei -30°C bis -10°C aufbewahren.		Hersteller
	Nicht zur Wiederverwendung		Reizend
	Bestellnummer		Ausreichend für <n> Tests
	Verwendbar bis		Vor Lichteinstrahlung schützen
	Gebrauchsanweisung beachten		Bevollmächtigter
	Conformité Européenne		

1. Produktname

OncoMate™ 5C Matrix Standard

Teilenr. MD3850

2. Verwendungszweck

Der OncoMate™ 5C Matrix Standard ist für die In-vitro-Diagnostik als Zubehör für IVD-Medizingeräte und zur Verwendung mit dem OncoMate™ MSI Dx Analysis System (Best.-Nr. MD3140) vorgesehen. Der Standard wird für die Spektralkalibrierung von Kapillarelektrophorese-Geräten vor der Analyse von Amplifikationsprodukten verwendet, die mit dem OncoMate™ MSI Dx Analysis System erzeugt wurden. Dieses Produkt ist ausschließlich zur Verwendung von Fachpersonal bestimmt.

3. Zusammenfassung und Erläuterung

Das OncoMate™ MSI Dx Analysis System verwendet die Multiplex-Polymerase-Kettenreaktion (Multiplex-PCR), um DNA-Fragmente zu erzeugen, die mit drei verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen markiert sind: Fluoreszein, JOE und TMR-ET. Bei der Analyse mittels Kapillarelektrophorese werden die farbstoffmarkierten DNA-Fragmente getrennt und vom Gerät zusammen mit dem WEN-Farbstoff-markierten Größenstandard 500 nachgewiesen. Vor der Analyse muss das Kapillarelektrophorese-Gerät mit dem OncoMate™ 5C Matrix Standard kalibriert werden, um die Fluoreszenzsignale der spezifischen Farbstoffe zu unterscheiden, die im Assay verwendet werden. Der OncoMate™ 5C Matrix Standard^(a,b) besteht aus DNA-Fragmenten, die in einem Röhrchen mit fünf verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen (Fluoreszein, JOE, TMR-ET, CXR-ET und WEN) markiert sind. Die Spektralkalibrierung erfolgt gemäß den Anweisungen des Geräteherstellers.

Befolgen Sie die Bedienungsanleitung des Geräteherstellers für die entsprechenden Wartungsverfahren Ihres Geräts. So muss beispielsweise eine neue Spektralkalibrierung durchgeführt werden, nachdem das Kapillarelektrophorese-System umfangreich gewartet wurde, wie z. B. der Wechsel der Anregungsquelle (z. B. Laser), die Kalibrierung oder der Austausch der CCD-Kamera oder eine Änderung des Polymertyps oder des Kapillar-Arrays. Eine neue Spektralkalibrierung sollte auch dann durchgeführt werden, wenn Bleed-through-Peaks beobachtet werden, die die Datenanalyse stören.

4. Testprinzip

Bei der Datenerfassung eines Kapillarelektrophorese-Geräts werden DNA-Fragmente, die mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert sind, einer Lichtquelle ausgesetzt und emittieren Licht unterschiedlicher Wellenlänge. Diese Emissionen werden von einer integrierten Kamera zur weiteren Analyse erfasst. Durch die Verwendung mehrerer Fluoreszenzfarbstoffe können DNA-Fragmenten ähnlicher Größe in einem einzigen Vorgang nachgewiesen werden.

Die verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffe, die vom OncoMate™ MSI Dx Analysis System verwendet werden, haben jeweils eine maximale Lichtemission bei einer bestimmten Wellenlänge, emittieren jedoch Licht über einen Bereich unterschiedlicher Wellenlängen. An Stellen, an denen sich die spektralen Emissionen dieser Farbstoffe überschneiden, wird die Identifizierung der Farbstoffquelle der Emission verfälscht, was wiederum die Datenanalyse beeinträchtigt. Um Mikrosatellitendaten zu analysieren, die sich aus der Verwendung mehrerer Fluoreszenzfarbstoffe ergeben, muss die Analysesoftware des Geräts daher Farbemissionsspektren unterscheiden.

4. Testprinzip (Fortsetzung)

Ein spektraler Kalibrierungsstandard oder Matrixstandard besteht aus fluoreszierend markierten DNA-Fragmenten, die während einer spektralen Kalibrierung analysiert werden. Die Datenerfassungssoftware für die Kapillarelektrophorese analysiert die Emissionsspektren dieser farbstoffmarkierten Fragmente, um spektrale Überlappungen zu charakterisieren und eine Multi-Komponenten-Dekonvolutionsmatrix zu erstellen, die für jede Kapillare des kalibrierten Arrays spezifisch ist. Die Dekonvolutionsmatrix wird in den nachfolgenden Analyseläufen automatisch auf die Rohprobandaten angewendet, um die beobachtete Fluoreszenz zu isolieren und den einzelnen Farbquellen zuzuordnen.

5. Produktkomponenten und Lagerbedingungen



5.1 Im Lieferumfang enthaltene Materialien

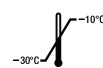
Die in diesem Produkt enthaltenen Reagenzien reichen für fünf Spektalkalibrierungen aus. Die folgenden Materialien sind enthalten:

KOMPONENTE	MENGE	TEILENR.
5C Matrix Mix	150 µl	MD430A

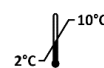


Beinhaltet: Fluoreszierend markierte DNA-Fragmente

Lagerbedingungen: Post-Amplifikationsbereich; vor der Verwendung. Vor Lichteinstrahlung schützen.



vor der Verwendung;

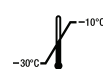


nach erster Ver-

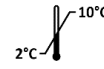
KOMPONENTE	MENGE	TEILENR.
Matrix Dilution Buffer	5 × 200 µl	MD191A

Beinhaltet: Tris-EDTA-basierter Puffer

Lagerbedingungen: Post-Amplifikationsbereich; erster Verwendung.



vor der Verwendung;



nach

5.2 Lagerung und Handhabung

Lagern Sie den OncoMate™ 5C Matrix Standard mit den Post-Amplifikationsreagenzien. Lagern Sie alle Komponenten nach Erhalt bei –30 °C bis –10 °C in einem Non-Frost-Free-Gefrierschrank, geschützt vor Licht. Lagern Sie Reagenzien nicht in der Gefrierschranktür, da die Temperaturen dort schwanken können. Nach der ersten Verwendung lagern Sie die OncoMate™ 5C Matrix Standard-Komponenten bei 2–10 °C, geschützt vor Licht, bis zu 3 Monate. Der OncoMate™ 5C Matrix Standard ist lichtempfindlich; verdünnen Sie die 5C Matrix Mix im Matrix Dilution Buffer im mitgelieferten bernsteinfarbenen Röhrchen. Lagern Sie die verdünnte 5C Matrix Mix bei 2–10 °C für bis zu 6 Tage.

Hinweis: Die Komponenten des OncoMate™ 5C Matrix Standard dürfen nicht wieder eingefroren werden.

5.3 Nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Laborreagenzien

- Hi-Di™ Formamide (z. B. Applied Biosystems Best.-Nr. 4404307)

Die Verwendung von Hi-Di™ Formamide ist für die Spektalkalibrierung mit dem OncoMate™ 5C Matrix Standard erforderlich. Frieren Sie Formamid in Aliquoten bei –20 °C ein. Mehrere Frost-Tau-Zyklen oder eine Langzeitlagerung bei 4 °C können zum Abbau von Formamid führen.



Formamid ist ein Reizmittel und ein Teratogen; vermeiden Sie das Einatmen und den Kontakt mit der Haut. Lesen Sie den Warnhinweis und treffen Sie geeignete Vorsichtsmaßnahmen beim Umgang mit dieser Substanz. Tragen Sie Handschuhe, Schutzkleidung und Schutzbrille, wenn Sie die nachfolgenden Protokolle ausführen.

Die Nichteinhaltung der empfohlenen Protokolle zur Lagerung von Reagenzien zur Spektalkalibrierung, zur Durchführung der Spektalkalibrierung oder zur Annahme oder Ablehnung der Ergebnisse der Spektalkalibrierung kann bei der Kapillarelektrophorese-Analyse von Amplifikationsprodukten des OncoMate™ MSI Dx Analysis System zu Bleed-through-Artefakten („Pull-up“) führen. Bleed-through-Peaks können die Assayergebnisse verschlechtern oder die Dateninterpretation erschweren.

Laboraüstung

- Satz kalibrierter Präzisionspipetten, die 1 µl bis 1000 µl abgeben können
- aerosolbeständige Pipettenspitzen (10 µl bis 1000 µl)
- 1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen
- Zentrifuge kompatibel mit 96-Well-Platten (z. B. „Minizentrifuge für Platten“)
- Magazine für Mikrozentrifugen-Röhrchen
- Vortexmischer
- Non-Frost-Free Gefrierschrank für –30 °C bis –10 °C
- Kühlschrank für 2 °C bis 10 °C

Geräte und Zubehör

- Kapillarelektrophorese-Gerät und benötigtes Zubehör, einschließlich Polymer, Array, Puffer, Wasser und Wartungsartikel, die vom Gerätehersteller empfohlen werden.
- MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate (z. B. ThermoFisher Best.-Nr. 4306737)

6. Anforderungen an das Kapillarelektrophorese-Gerät

Die Amplifikationsprodukte des OncoMate™ MSI Dx Analysis System werden nach Spektralkalibrierung mit dem OncoMate™ 5C Matrix Standard durch Kapillarelektrophorese getrennt und analysiert. Die Leistung des OncoMate™ 5C Matrix Standard und OncoMate™ MSI Dx Analysis System wurde mit dem Applied Biosystems® 3500 Dx Genetic Analyzer unter den Fragment Analysis (Fragmentanalyse)-Einstellungen bewertet und mit dem POP-7® Polymer und einem 50-cm-Kapillar-Array konfiguriert. Geräte, die mit dem OncoMate™ MSI Dx Analysis System und dem OncoMate™ 5C Matrix Standard kompatibel sind, haben folgende gemeinsame Spezifikationen:

Anzahl der erkannten Farbstoffe: ≥ 5

Kapillar-Array-Länge: Array-Längen, die für eine Einzelbasen-Auflösung geeignet sind, einschließlich 50 cm

Separationsmatrix: POP-7® Polymer oder gleichwertiges Produkt

Anregungswellenlänge (ungefähr): 480 nm bis 520 nm

Detektionsoptik: Für Promega-Farbstoffe ist eine Emissionserfassung von ca. 500 nm bis 630 nm erforderlich

Auflösungsbereich: 1-bp-Auflösung von 60 bp bis ≥ 300 bp

Sizing-Genauigkeit (Reproduzierbarkeit, ausgedrückt als Standardabweichung): $\leq 0,15$ bp über einen Bereich von 60 bp bis ≥ 300 bp

7. Vorbereitung des Kapillarelektrophorese-Geräts



Befolgen Sie die Anweisungen des Herstellers für den Betrieb und die Wartung des ausgewählten Kapillarelektrophorese-Geräts. Die Spektralkalibrierung muss mit dem gleichen Kapillarelektrophorese-Polymerstyp und dem gleichen Array durchgeführt werden, die für die anschließende Analyse der Amplifikationsprodukte des OncoMate™ MSI Dx Analysis System verwendet werden.

1. Stellen Sie sicher, dass das Gerätepolymer und die Puffer nicht abgelaufen sind und dass eine ausreichende Anzahl von Proben oder Injektionen zur Verfügung steht, um die Kalibrierung abzuschließen.
2. Gegebenenfalls den Kapillarelektrophorese-Ofen nach Herstellerangaben mindestens 30 Minuten vor Beginn eines Laufs vorheizen.
3. Bevor eine Spektralkalibrierung durchgeführt wird, kann eine räumliche Kalibrierung erforderlich sein. Weitere Informationen finden Sie in der Bedienungsanleitung des jeweiligen Geräts. Wenn das Kapillarelektrophorese-Gerät eine räumliche Kalibrierung erfordert und Sie noch keine durchgeführt haben, ist sie jetzt vorzunehmen.

Hinweis: Wir empfehlen die Verwendung eines neuen Kapillar-Arrays, eines frischen Polymers und eines frischen Puffers, um die besten Ergebnisse zu erhalten.

8. Analyse des Matrix Standard



1. Lassen Sie den 5C Matrix Mix und den Matrix Dilution Buffer bei der ersten Verwendung vollständig auftauen. Nach der ersten Verwendung lagern Sie die Reagenzien lichtgeschützt bei 2–10 °C.
2. Vortexieren Sie den 5C Matrix Mix für 10–15 Sekunden mit maximaler Geschwindigkeit. Geben Sie 10 µl 5C

Matrix Mix in ein Röhrchen mit Matrix Dilution Buffer. Vortexieren Sie die Mischung für 10–15 Sekunden mit maximaler Geschwindigkeit. Notieren Sie das Verdünnungsdatum auf dem Röhrchen.

Hinweis: Der verdünnte 5C Matrix Mix kann bei 2–10 °C für bis zu 6 Tage gelagert werden.

3. Geben Sie 10 µl des verdünnten 5C Matrix Mix (hergestellt in Schritt 2) zu 500 µl Hi-Di™ Formamide hinzu. Vortexieren Sie die Mischung für 10–15 Sekunden mit maximaler Geschwindigkeit.
 4. Geben Sie in jedes Well, das der Kapillar-Array während der Spektralkalibrierung prüfen wird, 15 µl der Formamid-Matrix-Mischung (vorbereitet in Schritt 3). Die Anzahl der Wells, die für die Spektralkalibrierung benötigt werden, hängt von dem jeweiligen Gerät und dem Array ab, das für die nachfolgende Analyse von Amplifikationsprodukten des OncoMate™ MSI Dx Analysis System verwendet wird.
 5. Decken Sie die Platte gemäß den Anweisungen des Geräteherstellers ab und zentrifugieren Sie die Platte kurz, damit sich die Mischung auf den Boden der Wells absetzt und Luftblasen entfernt werden.
- 2** **Hinweis:** Die 96-Well-Platte mit der Formamid-Matrix-Mischung darf nicht erwärmt werden. Entsorgen Sie alle nicht verwendeten Formamid-Matrix-Mischungen.

6. Legen Sie die Platte auf das ausgewählte Kapillarelektrophorese-Gerät und führen Sie die Spektralkalibrierung gemäß den Anweisungen in der Bedienungsanleitung des Geräts durch. Tabelle 1 enthält Geräteeinstellungen, die für die Spektralkalibrierung mit dem OncoMate™ 5C Matrix Standard verwendet werden. Einige der in Tabelle 1 beschriebenen Einstellungen sind möglicherweise nicht für alle Kapillarelektrophorese-Geräte-Plattformen anwendbar. Weitere Informationen finden Sie in der Bedienungsanleitung des Kapillarelektrophorese-Geräts oder wenden Sie sich an Ihre lokale Promega-Niederlassung oder Ihren Vertriebspartner oder senden Sie eine E-Mail an: Genetic@promega.com.

Hinweis: Sie müssen ein neues Dye Set (Farbstoffset) erstellen, bevor Sie Ihre erste Spektralkalibrierung mit dem OncoMate™ 5C Matrix Standard durchführen können. Verwenden Sie entweder ein Dye Set (Farbstoffset), das spezifisch für die im Matrix Standard verwendeten Farbstoffe (Fluoreszein, JOE, TMR-ET, CXR-ET und WEN) ist, oder ein generisches Farbstoffset (z. B. „AnyDye“ (Beliebiger Farbstoff) oder gleichwertig) als Vorlage. Die Verwendung eines ungeeigneten Dye Set (Farbstoffsets) für die Spektralkalibrierung kann zu einer verminderten Farbstoff-Signal-Ausgewogenheit zwischen den bei der Fragmentanalyse erfassten Fragmenten führen.

Tabelle 1. Einstellungen für die Spektralkalibrierung mit dem OncoMate™ 5C Matrix Standard.

Kategorie	Einstellungen
Anzahl der Farbstoffe (d. h. Farben)	5
Dye Set (Farbstoffset)	Farbstoff-spezifisch ¹ , beliebiger Farbstoff oder gleichwertig
Dye Order (Farbstoff-Reihenfolge)	1, Orange; 2, Rot; 3, Gelb; 4, Grün; 5, Blau
Minimum Quality Value (Minimaler Qualitätswert)	0,95
Maximum Condition Number (Max. Konditionszahl)	8,0
Sensitivity (Empfindlichkeit)	0,4
Locate Start Point After Scan (Startpunkt nach Scan lokalisieren)	300
Locate Start Point Before Scan (Startpunkt vor Scan lokalisieren)	5000
Limit Scans to (Scans beschränken auf)	6500

¹Speziell entwickeltes Farbstoffset für Fluorescein, JOE, TMR-ET, CXR-ET und WEN

9. Interpretation der Ergebnisse

- Überprüfen Sie nach dem Abschluss des Spektralkalibrierlaufs die Ergebnisse der Spektralkalibrierung. Überprüfen Sie für jede Kapillare den Quality Value (Qualitätswert) und die Condition Number (Konditionszahl) der Spektralkalibrierung und überprüfen Sie die angezeigten Spektralemissionsdaten. Akzeptable Kapillaren haben einen Quality Value (Qualitätswert) von $\geq 0,95$ und eine Condition Number (Konditionszahl) von $\leq 8,0$. Stellen Sie sicher, dass die Reihenfolge (von links nach rechts) der aufgelösten Fragmentpeaks in der Anzeige der Intensität vs. Scanzahl Orange, Rot, Gelb, Grün und Blau ist (Abbildung 1, Panel A). Stellen Sie sicher, dass die Reihenfolge (von links nach rechts) der Farbsignale in der Emissionsspektrum-Anzeige Blau, Grün, Gelb, Rot und Orange ist (Abbildung 1, Panel B).

Hinweis: Der Quality Value (Qualitätswert) für jede Kapillare bei einer bestandenen Spektralkalibrierung ist typischerweise $\geq 0,98$.

- Wenn alle Kapillaren bestanden haben und die entsprechenden Emissionsdaten korrekt angezeigt wurden, akzeptieren Sie die Spektralkalibrierung. Andernfalls lehnen Sie die Spektralkalibrierung ab und lesen Sie Abschnitt 10, Fehlerbehebung.

Hinweis: Wenn bei der Spektralkalibrierung eine „borrowing“ (übernommene) Option verwendet wurde, finden Sie die erforderliche Anzahl von akzeptierten Kapillaren in der Bedienungsanleitung des Kapillarelektrophorese-Gerätes.

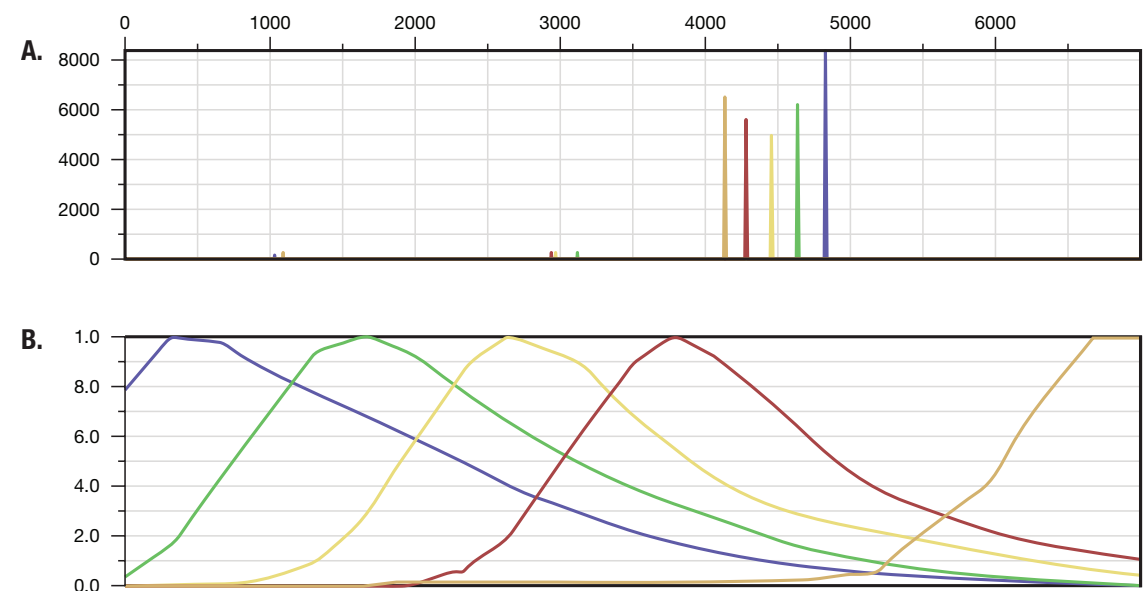


Abbildung 1. Repräsentative Daten für den OncoMate™ 5C Matrix Standard. Panel A. Aufgelöste Fragmentpeaks. Panel B. Farbstoff-Emissionsspektren.

10. Fehlerbehebung

Antworten auf Fragen, die hier nicht behandelt werden, finden Sie in der Bedienungsanleitung des Kapillarelektrophorese-Geräts oder wenden Sie sich an Ihre lokale Promega-Niederlassung oder Ihren Vertriebspartner. Die Kontaktdaten finden Sie unter: www.promega.com; E-Mail: genetic@promega.com.

<u>Symptome</u>	<u>Ursachen und Anmerkungen</u>
Fehler bei Kapillarelektrophorese-Signalpeak oder Farbstoffreihenfolge erkannt	Kontaminationen oder Kristallablagerungen waren im Polymer vorhanden. Stellen Sie sicher, dass neu zugegebenes Polymer gemäß den Anweisungen des Herstellers auf Raumtemperatur gebracht wird. Wiederholen Sie die Spekttralkalibrierung. Falls <u>erforderlich, ersetzen Sie das Polymer.</u> Blasen waren in der Gerätefluidik vorhanden. Lesen Sie das Handbuch des Kapillarelektrophorese-Geräts, um festzustellen, wie Sie die Blasen in der Gerätefluidik entfernen können, und wiederholen Sie dann die <u>Spekttralkalibrierung.</u>
Spekttralkalibrierung fehlgeschlagen oder es wurde kein Signal erkannt	Auf dem Systemcomputer ist ein Fehler aufgetreten. Starten Sie das Kapillarelektrophorese-Gerät und den Computer des Geräts gemäß den Anweisungen des <u>Herstellers neu. Wiederholen Sie die Spekttralkalibrierung.</u> Das Gerät wurde nicht ausreichend vorgewärmt. Stellen Sie ggf. sicher, dass der Geräteofen vor der Kalibrierung mindestens 30 Minuten lang auf 60 °C vorgeheizt wurde. <u>Wiederholen Sie die Spekttralkalibrierung.</u> Die Verbrauchsmaterialien der Geräte waren abgelaufen oder ihre Qualität war beeinträchtigt. Für beste Ergebnisse bei der Spekttralkalibrierung verwenden Sie frisches Polymer, frische Puffer und ein Kapillar-Array mit <u>weniger als 100 Injektionen.</u> Für die Spekttralkalibrierung wurde ein ungeeignetes Dye Set (Farbstoffset) ausgewählt oder die Einstellungen der Spekttralkalibrierung für das Dye Set (Farbstoffset) wurden falsch programmiert. Stellen Sie sicher, dass ein Dye Set (Farbstoffset) mit 5 Farben verwendet wird und dass die Analyseinstellungen für das Dye Set (Farbstoffset) mit 5 Farben <u>genau programmiert sind (siehe Tabelle 1).</u>

Symptome

Spekttralkalibrierung fehlgeschlagen oder es wurde kein Signal erkannt (Fortsetzung)

Ursachen und Anmerkungen

Bei der Spekttralkalibrierung wurden zu wenig oder falsche Fragmentpeaks erkannt. Übertragungen aus früheren Injektionen waren vorhanden oder Matrixreagenzien waren abgelaufen oder wurden unsachgemäß gelagert. Wiederholen Sie die Spekttralkalibrierung mit ordnungsgemäß gelagerten oder nicht abgelaufenen Reagenzien, falls zutreffend. Vor der Wiederholung der Spekttralkalibrierung kann eine Leerwert-Injektion (nur Hi-Di™ Formamide) kann erforderlich sein.
Der OncoMate™ 5C Matrix Standard wurde nicht korrekt vorbereitet. Bereiten Sie wie in Abschnitt 8 beschrieben einen frisch verdünnten 5C Matrix Mix vor und führen Sie eine neue Spekttralkalibrierung durch.
Der OncoMate™ 5C Matrix Standard war abgelaufen oder aufgrund unsachgemäßer Lagerung verdorben. Überprüfen Sie das Verfallsdatum und die Lagerbedingungen des Matrix Standard. Falls erforderlich, wiederholen Sie die Spekttralkalibrierung mit ordnungsgemäß gelagerten, nicht abgelaufenen Reagenzien.
Eine oder mehrere Kapillaren waren blockiert. Füllen Sie den Kapillar-Array erneut auf und wiederholen Sie die Spekttralkalibrierung. Setzen Sie bei Bedarf einen neuen Kapillar-Array ein.
Der Matrix Standard war zu stark verdünnt. Ein zu stark verdünnter Matrix Standard führt zu niedrigen Höhen der Spekttralkalibrierungspeaks, was wiederum zu einem Versagen der Spekttralkalibrierung führen kann. Wiederholen Sie die Spekttralkalibrierung und stellen Sie sicher, dass der 5C Matrix Mix vor dem Gebrauch ausreichend vortexiert wurde und dass das richtige Verhältnis von verdünntem 5C Matrix Mix zu Hi-Di™ Formamide verwendet wird. Falls erforderlich, erhöhen Sie die Menge des verdünnten 5C Matrix Mix, die dem Formamide während der Probenvorbereitung zugesetzt wird.

10. Fehlerbehebung (Fortsetzung)

Symptome	Ursachen und Anmerkungen
Spektralkalibrierung fehlgeschlagen oder es wurde kein Signal erkannt (Fortsetzung)	<p>Der Matrix Standard war zu hoch konzentriert. Zu hoch konzentrierter Matrix Standard führt zu überhöhten Spektralkalibrierungspeaks. Zu hohe Peaks können zu einem Bleed-through oder einer Übersubtraktion bei anderen Farbstoffen und zu einem Versagen der Spektralkalibrierung führen. Falls erforderlich, verringern Sie die Menge des verdünnten 5C Matrix Mix, der dem Formamid während der Probenvorbereitung zugesetzt wird. Wiederholen Sie die Spektralkalibrierung und stellen Sie sicher, dass der 5C Matrix Mix vor dem Gebrauch ausreichend vortexiert wird und das richtige Verhältnis von 5C Matrix Mix zu Hi-Di™ Formamide verwendet wird.</p> <p>Formamid von schlechter Qualität wurde verwendet. Die Qualität von Formamid ist entscheidend. Verwenden Sie den OncoMate™ 5C Matrix Standard nur mit Hi-Di™ Formamide. Frieren Sie nach der ersten Verwendung Formamid in Aliquoten bei -20 °C ein. Mehrere Frost-Tau-Zyklen oder eine Langzeitlagerung bei 4 °C können zum Abbau von Formamid führen. Formamid von schlechter Qualität und Formamid, das Frost-Tau-Zyklen ausgesetzt wurde, enthält Ionen, die während der Injektion mit der DNA konkurrieren. Dies führt zu geringeren Peakhöhen und reduzierter Empfindlichkeit bei der Kapillarelektrophorese.</p> <p>Die Kapillarspitzen waren nicht in Kontakt mit dem Matrix Standard. Stellen Sie sicher, dass 15 µl der Formamid-Matrix-Mischung zu jeder Vertiefung der 96-Well-Platte hinzugefügt und dass die Platte vor Beginn der Spektralkalibrierung ausreichend zentrifugiert wurde.</p>

11. Verwandte Produkte

Produkt	Größe	Best.-Nr.
OncoMate™ MSI Dx Analysis System	100 Reaktionen	MD3140

^(a)U.S. Pat. Nr. 9,139,868, Europäisches Pat. Nr. 2972229 und andere angemeldete Patente.

^(b)Die Farbstoffe TMR-ET, CXR-ET und WEN sind urheberrechtlich geschützt.

© 2019 Promega Corporation. Alle Rechte vorbehalten.

OncoMate ist eine Marke der Promega Corporation.

Applied Biosystems ist eine eingetragene Marke von Applied Biosystems. Hi-Di ist eine Marke der Promega Corporation. MicroAmp und POP-7 sind eingetragene Marken von Thermo Fisher Scientific.

Die Produkte können angemeldeten oder erteilten Patenten oder bestimmten Einschränkungen unterliegen. Weitere Informationen finden Sie auf unserer Website. Alle Preise und technischen Daten können ohne vorherige Ankündigung geändert werden.

Änderungen zu Produktansprüchen bleiben vorbehalten. Bitte wenden Sie sich an den Technischen Kundendienst von Promega oder rufen Sie den Online-Katalog von Promega auf, um die aktuellsten Informationen zu Promega-Produkten zu erhalten.