applied biosystems by life technologies™

# GlobalFiler™ Express PCR Amplification Kit – PCR Amplification and CE

**Pub. No.** 4481787 Rev. A Translated from English Publication Number 4480794 Rev. B

**Uwaga:** Informacje dotyczące bezpieczeństwa i zagrożenia biologicznego można znaleźć w części „Bezpieczeństwo" dokumentu *GlobalFiler™ Express PCR Amplification Kit User Guide* (Pub. no. 4477672). W przypadku substancji chemicznych należy się zapoznać z odpowiednimi kartami charakterystyk substancji niebezpiecznych (SDS) i postępować zgodnie z podanymi instrukcjami. Należy nosić odpowiednią odzież ochronną, okulary i rękawiczki.


- Ogólne informacje o produkcie . . . . . 1
- Wymagania wstępne . . . . . 1
- Przeprowadzanie reakcji PCR. . . . . 1
- Wymagania dotyczące drabiny alleli. . . . . 2
- Wymagania dotyczące aparatu do elektroforezy. . . . . 2
- Analiza danych . . . . . 4
- Ograniczona gwarancja na produkt. . . . . 4


## Ogólne informacje o produkcie

Zestaw GlobalFiler™ Express Kit (200 reakcji, Part no. 4476609 lub 1000 reakcji, Part no. 4474665) to analiza multipleksowa w sekwencji mikrosatelitarnej (STR) amplifikująca 21 autosomalnych loci STR, amelogeninę, 1 locus STR w chromosomie Y oraz 1 locus insercji/delecji w chromosomie Y (indel Y). Analiza jest zoptymalizowana pod kątem bezpośredniej amplifikacji próbek pochodzących z pojedynczego źródła.

## Wymagania wstępne

Przed rozpoczęciem:

- Przykłady konfiguracji:
  - Próbki krwi lub zawierające komórki nabłonka jamy ustnej pobrane na poddany obróbce papier (zgodnie z opisem w skróconej instrukcji obsługi Pub. no. 4481769)
  - Próbki krwi lub zawierające komórki nabłonka jamy ustnej pobrane na niepoddany obróbce papier (zgodnie z opisem w skróconej instrukcji obsługi Pub. no. 4481778)
  - Próbki zawierające komórki nabłonka jamy ustnej pobrane na wacik (zgodnie z opisem w skróconej instrukcji obsługi Pub. no. 4481760)
- Należy umieścić niniejszy dokument w laboratorium, w miejscu, w którym przeprowadzane są procedury po reakcji PCR.

## Przeprowadzanie reakcji PCR

**WAŻNE!** Zestaw GlobalFiler™ Express Kit został zatwierdzony do użycia z termocyklerem Veriti® Thermal Cycler, analizatorem GeneAmp® PCR System 9700 z blokiem próbek pokrytym złotem (Part no. 4314878) lub srebrnym blokiem próbek (Part no. N8050001).

1. Zaprogramować parametry obróbki termicznej.

**WAŻNE!** W przypadku stosowania analizatora GeneAmp PCR System 9700 wybrać tryb zmian **Max**. W przypadku stosowania termocyklera Veriti® Thermal Cycler wybrać współczynnik szybkości zmian **100%**. NIE stosować trybu emulacji 9600.

| Krok wstępnej inkubacji | Optymalna liczba cykli† | | Końcowe wydłużanie | Końcowa inkubacja |
|---|---|---|---|---|
| | Denaturacja | Przyłączanie/rozszerzanie | | |
| **WSTRZYMANIE** | **CYKL** | | **WSTRZYMANIE** | **WSTRZYMANIE** |
| 95°C<br>1 min | 94°C<br>3 s | 60°C<br>30 s | 60°C<br>8 min | 4°C<br>∞ |

† Określić optymalną liczbę cykli dla laboratorium zgodnie z instrukcjami podanymi w instrukcji użytkownika.

life technologies™

2. Włożyć płytkę do termocyklera i zamknąć pokrywę grzejną.

**WAŻNE!** W przypadku stosowania termocyklera 9700 z blokiem srebrnym lub srebrnym powlekanym złotem umieścić na płytce nakładkę kompresyjną MicroAmp® Compression Pad (Part no. 4312639) w celu dodatkowego zabezpieczenia przed parowaniem w trakcie obróbki termicznej. Termocykler Veriti® Thermal Cycler nie wymaga stosowania nakładki kompresyjnej.

3. Uruchomić proces amplifikacji.

4. Po zakończeniu reakcji zachować amplifikowany DNA.

| W przypadku przechowywania DNA przez... | Umieścić w temperaturze... |
|---|---|
| < 2 tygodnie | Od 2 do 8°C |
| > 2 tygodnie | Od -15 do -25°C |

**WAŻNE!** Chronić produkty amplifikacji przed działaniem światła.

## Wymagania dotyczące drabiny alleli

Aby uzyskać dokładny genotyp próbek, należy rozdzielić próbkę drabiny alleli równolegle z próbkami badanymi.

| Urządzenie | Liczba drabin alleli do rozdzielenia | Jeden nastrzyk to | Liczba próbek na drabiny alleli |
|---|---|---|---|
| 3130 | 1 na 4 nastrzyki | 4 próbki | 15 próbek + 1 drabina alleli |
| 3130*xl* | 1 na nastrzyk | 16 próbek | 15 próbek + 1 drabina alleli |
| 3500 | 1 na 3 nastrzyki | 8 próbek | 23 próbki + 1 drabina alleli |
| 3500xL | 1 na nastrzyk | 24 próbki | 23 próbki + 1 drabina alleli |
| 3730 | 3 na nastrzyk | 48 próbek | 15 próbek + 1 drabina alleli |

**WAŻNE!** Zmienna temperatura w laboratorium może wpłynąć na prędkość migracji fragmentów oraz spowodować różnice w wielkościach między poszczególnymi rozdzieleniami. Zaleca się zastosowanie powyższej częstotliwości nastrzyku drabin alleli, która powinna uwzględniać normalną zmienność szybkości rozdzielania. Wymaganą częstotliwość nastrzyku drabin alleli należy jednak zweryfikować w ramach wewnętrznych procedur walidacyjnych, aby mieć pewność uzyskiwania dokładnego genotypu wszystkich próbek w określonych warunkach laboratoryjnych.

Uzyskiwanie genotypu poprzez rozdzielanie drabin alleli w takich samych warunkach, co rozdzielanie próbek ma szczególne znaczenie, ponieważ wielkości otrzymywane dla tej samej próbki z wykorzystaniem różnych aparatów mogą się różnić z powodu odmiennych matryc polimerowych oraz odmiennych warunków elektroforezy.

## Wymagania dotyczące aparatu do elektroforezy

### Wymagania w zakresie aparatu 3130 Series (przed użyciem należy aktywować licencję na tryb 6-barwnikowy, zgodnie z opisem w instrukcji użytkownika)

| Sekwenator | System operacyjny | Wersja oprogramowania | Dodatkowe oprogramowanie | Moduły rozdziału i warunki | Odniesienia |
|---|---|---|---|---|---|
| 3130 | Windows® 7 | Data Collection Software 4 | 3130/3730 DC v4 6-Dye Module v1 (skontaktować się z firmą Life Technologies) | • HIDFragmentAnalysis36_POP4_1<br>Warunki nastrzyku: 3 kV/5 s<br>Warunki rozdzielania: 15 kV/1500 s<br>• Zestaw barwników J6 | *Applied Biosystems 3130 Series Data Collection Software 4 Getting Started Guide* (Pub. no. 4477796) |
| 3130*xl*† | | | | • HIDFragmentAnalysis36_POP4_1<br>Warunki nastrzyku: 3 kV/10 s<br>Warunki rozdzielania: 15 kV/1500 s<br>• Zestaw barwników J6 | |

† Walidację zestawu GlobalFiler™ Express Kit przeprowadzono przy użyciu konfiguracji 3130xl, 3500 i 3500xL.

**Wymagania w zakresie aparatu 3500 Series (przed użyciem należy uruchomić narzędzie HID Updater zgodnie z opisem w niniejszej instrukcji użytkownika)**

| Sekwenator | System operacyjny | Wersja oprogramowania | Dodatkowe oprogramowanie | Moduły rozdziału i warunki | Odniesienia |
|---|---|---|---|---|---|
| 3500† | Windows Vista® | 3500 Data Collection Software v1 | HID Updater 3500 DC v2 (Part no. 4480670) | • Wzorniki płytek: 6dye_36_POP4<br>• Oznaczenia: GF+Norm_POP4 i GF_POP4 z protokołem aparatu HID36_POP4_J6_NT3200, przy spełnieniu następujących warunków:<br>– Moduł rozdziału: HID36_POP4<br>– Warunki nastrzyku: 1,2 kV/15 s<br>– Warunki rozdzielania: 13 kV/1550 s<br>– Zestaw barwników J6 | *Applied Biosystems 3500/ 3500xL Genetic Analyzer User Guide* (Pub. no. 4401661)<br>*HID Updater 3500 Data Collection Software v2 Release Notes* |
| 3500xL† | | | | • Wzorniki płytek: 6dye_36_POP4_xl<br>• Oznaczenia: GF+Norm_POP4_xl i GF_POP4_xl z protokołem aparatu HID36_POP4xl_J6_NT3200, przy spełnieniu następujących warunków:<br>– Moduł rozdziału: HID36_POP4<br>– Warunki nastrzyku: 1,2 kV/24 s<br>– Warunki rozdzielania: 13 kV/1550 s<br>– Zestaw barwników J6 | |
| 3500†<br>3500xL† | Windows® 7 | 3500 Data Collection Software v2 | HID Updater 3500 DC v2 (Part no. 4480670) | Takie same, jak wymienione powyżej w przypadku oprogramowania 3500 Data Collection Software v1 | *3500/3500xL Genetic Analyzer User Guide* (Pub. no. 4476988)<br>*HID Updater 3500 Data Collection Software v2 Release Notes* |

† Walidację zestawu GlobalFiler™ Express Kit przeprowadzono przy użyciu konfiguracji 3130xl, 3500 i 3500xL.

**Wymagania w zakresie aparatu 3730 Series (przed użyciem należy aktywować licencję na tryb 6-barwnikowy, zgodnie z opisem w instrukcji użytkownika)**

| Analizator DNA | System operacyjny | Wersja oprogramowania | Dodatkowe oprogramowanie | Moduły rozdziału i warunki | Odniesienia |
|---|---|---|---|---|---|
| 3730 | Windows® 7 | Data Collection Software 4 | 3030/3730 DC v4 6-Dye Module v1 (skontaktować się z firmą Life Technologies) | • GeneMapper36_POP7_1<br>Warunki nastrzyku: 2 kV/10 s<br>Warunki rozdzielania: 15 kV/1200 s<br>• Zestaw barwników J6 | *Applied Biosystems 3730/ 3730xl DNA Analyzer Getting Started Guide* (Pub. no. 4478016) |

## Przeprowadzanie elektroforezy

Próbki do elektroforezy należy przygotować bezpośrednio przed włożeniem do urządzenia.

1. Obliczyć objętość odczynnika Hi-Di™ Formamide i standardu wielkości wymaganych do przygotowania próbki:

| Odczynnik | Objętość na reakcję |
|---|---|
| GeneScan™ 600 LIZ® Size Standard v2.0 | 0,5 µl |
| Hi-Di™ Formamide | 9,5 µl |

**Uwaga:** W obliczeniach należy uwzględnić dodatkowe próbki, aby zapewnić dodatkową ilość odczynników na wypadek strat podczas pipetowania.

---

**WAŻNE!** Ilość standardu wielkości podana w tabeli to wartość sugerowana. Określić odpowiednią ilość standardu wielkości w oparciu o własne doświadczenia i uzyskane wyniki.

---

2. Przenieść pipetą wymaganą objętość składników do odpowiedniej probówki polipropylenowej.
3. Wymieszać probówkę, a następnie krótko odwirować.
4. Do poszczególnych dołków mikropłytki reakcyjnej 96-dołkowej MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate dodać:
   - 10 µl mieszaniny formamidu i standardu wielkości
   - 1 µl produktu reakcji PCR lub produktu Drabina alleli

   **Uwaga:** Do pustych dołków dodać 10 µl odczynnika Hi-Di™ Formamide.
5. Zakryć mikropłytkę reakcyjną odpowiednią przykrywką, a następnie wymieszać w wytrząsarce i krótko odwirować mirkopłytkę, tak aby zawartość każdego dołka zebrała się na dnie.
6. Ogrzewać mikropłytkę reakcyjną w termocyklerze przez 3 minuty w temperaturze 95°C.
7. Natychmiast umieścić płytkę na lodzie na 3 minuty.
8. Umieścić płytkę w statywie i wsunąć do autosamplera.
9. Uruchomić proces elektroforezy.

## Analiza danych

Informacje o sposobie konfiguracji oprogramowania GeneMapper ® *ID-X* Software pod kątem analizy danych: *GlobalFiler™ Express PCR Amplification Kit User Guide* (Pub. no. 4477672), *GeneMapper® ID-X Software v1.4 New Features and Installation Procedures User Bulletin* (Pub. no. 4477684) lub *GeneMapper® ID-X SoftwareVersion 1.0 Getting Started Guide* (Pub. no. 4375574).

## Ograniczona gwarancja na produkt

Firma Life Technologies Corporation i/lub jej spółki zależne udzielają gwarancji na produkty zgodnie z zapisami ogólnych warunków i postanowień dotyczących sprzedaży produktów firmy Life Technologies, które można znaleźć w witrynie internetowej firmy Life Technologies pod adresem **www.lifetechnologies.com/termsandconditions**. Wszelkie pytania należy kierować do firmy Life Technologies na adres **www.lifetechnologies.com/support**.

**Produkt przeznaczony wyłącznie do celów sądowych lub ustalania ojcostwa.**

Informacje podane w niniejszej instrukcji mogą ulec zmianie bez powiadomienia.

ZRZECZENIE SIĘ ODPOWIEDZIALNOŚCI: FIRMA LIFE TECHNOLOGIES CORPORATION I/LUB JEJ SPÓŁKI ZALEŻNE NIE UDZIELAJĄ ŻADNYCH GWARANCJI W ODNIESIENIU DO NINIEJSZEGO DOKUMENTU, WYRAŹNYCH ANI DOROZUMIANYCH, W TYM MIĘDZY INNYMI GWARANCJI W ZAKRESIE ZBYWALNOŚCI, PRZYSTOSOWANIA DO OKREŚLONEGO CELU ORAZ NIENARUSZALNOŚCI. W WYMIARZE OGRANICZONYM PRZEZ PRAWO, W ŻADNYM WYPADKU FIRMA LIFE TECHNOLOGIES I/LUB JEJ SPÓŁKI ZALEŻNE NIE BĘDĄ PONOSIŁY ODPOWIEDZIALNOŚCI, UMOWNEJ, DELIKTOWEJ, GWARANCYJNEJ ANI OPARTEJ NA ŻADNYCH INNYCH REGULACJACH LUB INNEJ PODSTAWIE, ZA WYMIERNE, UBOCZNE, POŚREDNIE, DOMNIEMANE, WIELOKROTNE BĄDŹ WYNIKOWE SZKODY POWSTAŁE W ZWIĄZKU Z NINIEJSZYM DOKUMENTEM, W TYM MIĘDZY INNYMI Z JEGO ZASTOSOWANIEM.

© 2012 Life Technologies Corporation. Wszelkie prawa zastrzeżone. Znaki towarowe wymienione w niniejszym dokumencie są własnością firmy Life Technologies Corporation i/lub jej spółek zależnych bądź odpowiednich właścicieli. Windows i Windows Vista są znakami towarowymi firmy Microsoft Corporation.

**Headquarters**
5791 Van Allen Way | Carlsbad, CA 92008 USA | Phone +1 760 603 7200 | Toll Free in USA 800 955 6288
**For support visit** lifetechnologies.com/support

lifetechnologies.com

December 2012