

기술 설명서

Maxwell[®] CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit

제품 사용 지침서
AS1860

주의: 카트리지를 주의하여 취급하십시오. 쉘 부분의 모서리가 날카로울 수 있습니다.



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany



제품 사용 지침서
AS1860



Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit

모든 기술 관련 문헌은 www.promega.com/protocols/에서 이용하실 수 있습니다.
 본 기술 설명서의 최신 버전을 사용하고 있는지 확인하기 위해 웹 사이트를 방문하십시오.
 본 시스템의 사용에 대해 궁금한 점이 있으면 [Promega Technical Services\(techserv@promega.com\)](mailto:techserv@promega.com)로 이메일을 보내 주십시오.

1. 설명	2
2. 제품 구성요소 및 보관 조건	3
3. 제품의 의도된 목적/의도된 사용	5
4. 제품 사용 시 제한 사항	5
5. 시작하기 전 준비 사항	6
6. 샘플 준비	7
6.A. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit와 함께 사용하기 위한 대변 샘플 준비	7
6.B. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit와 함께 사용하기 위한 BAL 또는 가래 샘플 준비	8
6.C. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit와 함께 사용하기 위한 소변 샘플 준비	9
6.D. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit와 함께 사용하기 위한 혈장, 바이러스 수송 배지 또는 Pap 배지 샘플 준비	10
6.E. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Cartridge 준비	10
7. Maxwell® Instrument 설치 및 작동	12
8. 용출된 핵산 보관	13
9. 분석 성능 평가	14
9.A. DNA 수량, 품질 및 증폭 가능성	14
9.B. RNA 수량, 품질 및 증폭 가능성	15
9.C. 재현성	17
9.D. 간섭 물질로 인한 증폭 억제	20
9.E. 교차 오염	24
10. 임상 성능 평가	24
11. 리보뉴클레아제가 없는 환경 만들기	28
12. 참고 자료	28
13. 문제 해결	29
14. 관련 제품	30

Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit는 특정 국가에서만 사용할 수 있습니다.

1. 설명

Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit^(a)는 병원균 총 핵산의 효율적이고 자동화된 샘플 준비 및 정제를 쉬운 방법으로 제공하기 위해 표 1에 명시된 Maxwell® Instrument와 함께 사용하는 키트입니다. Maxwell® CSC Instrument는 사전 조제된 시약 카트리지와 사전 프로그래밍이 된 정제 절차가 함께 사용하도록 설계되어 단순성과 편의성을 극대화했습니다. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit는 대변, 가래, 기관지 세척액, 소변, 혈장, 수송 배지의 비인도 도말물 및 경부 도말물과 같은 인간 생물학적 샘플로부터 박테리아, 바이러스, 기생충 총 핵산의 자동화된 추출을 수행하기 위해 설계되었습니다. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit를 위한 Maxwell® Instrument 실행 방법은 약 40분 이내에 Maxwell® Instrument 샘플을 1개에서 최대 개수까지 처리할 수 있습니다. 100µl의 낮은 용출량은 정량적 PCR(qPCR) 또는 정량적 RT-PCR(RT-qPCR)과 같은 후속 응용 분야를 위한 농축된 정제 핵산을 생성합니다. 간단한 용해 전처리 단계 후, 샘플을 Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Cartridge에 첨가하고, 나머지는 완전히 자동화로 처리됩니다.

표 1. 지원 장비.

장비	Cat.#	기술 설명서
Maxwell® CSC	AS6000	TM457
Maxwell® CSC 48	AS8000	TM623

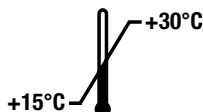
방법의 원리

Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit는 핵산의 샘플 포획, 세척 및 정제를 최적화하기 위해 이동성 고체상을 제공하는 상자성 입자를 사용하여 샘플을 정제합니다. Maxwell® Instruments는 자성 입자 처리 기기로 미리 채워진 카트리지의 첫 번째 웰에 있는 상자성 입자와 핵산을 효율적으로 결합합니다. 샘플은 총 핵산이 용출되기 전 일련의 세척을 통해 처리됩니다.

2. 제품 구성요소 및 보관 조건

제품	크기	CAT.#
Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit	48회 전처리	AS1860

체외 진단용. 전문가 전용. 48회 분리에 충분함. 카트리지는 일회용입니다.



포함 품목:

- 150ml 희석버퍼(ST1)
- 900μl 1-Thioglycerol
- 20ml Lysis 버퍼
- 2 × 1ml Proteinase K(PK) 용액
- 50 CSC/RSC 플런저
- 48 Maxwell® CSC Cartridges(CSCQ)
- 50 용출 튜브(0.5ml)
- 20ml 용출완충액

보관 조건: 수령 후, 1-Thioglycerol을 제거하고 +2°C에서 +10°C에 보관하십시오. 다른 키트 구성품은 실온 (+15°C에서 +30°C)에서 보관하십시오.



안전 정보: 카트리지는 에탄올, 아이소프로판올 및 구아니딘 염산을 함유하고 있습니다. 에탄올과 아이소프로판올은 가연성이며 유해하고, 자극을 유발하는 물질로 간주되어야 합니다. 구아니딘 염산은 독성이 있으며, 유해하고, 자극을 유발하는 물질로 간주되어야 합니다. 자세한 안전 정보는 SDS를 참조합니다.



카트리지는 잠재적인 감염 물질과 함께 사용하도록 설계되었습니다. 감염 물질을 취급하는 경우 적절한 보호 장비(예: 장갑 및 고글)를 착용하십시오. 이 시스템에 사용되는 모든 감염 물질의 취급 및 폐기는 해당 연구소의 지침을 준수하십시오.

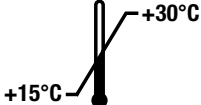


주의: 카트리지를 주의하여 취급하십시오. 모서리가 날카로울 수 있습니다.

추가 정보: Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit의 구성품은 키트와 함께 작동될 수 있도록 적합성 및 품질 관리 검사를 받았습니다. 다른 키트 로트 간에 키트 구성품을 섞어서 사용하지 **마십시오**. 키트에 제공된 구성품만 사용하십시오. 카트리지 밀봉이 수령 시 온전하지 않은 경우 카트리지를 사용하지 마십시오. 추가 안전 정보에 대하여, 다음 주소에 있는 안전보건자료(SDS)를 참조하십시오: www.promega.com

2. 제품 구성요소 및 보관 조건 (계속)

기호 키

기호	설명	기호	설명
	체외 진단용 의료 기기		재사용 금지
	+15°C에서 +30°C에서 보관하십시오.		제조사
	주의		가연성
	건강 위험		"n"회 테스트에 충분한 분량 포함
	경고. 펀치 포인트 위험.		경고. 생물 재해.
	Lot 번호		카탈로그 번호
	Conformité Européenne		공인된 대리점

3. 제품의 의도된 목적/의도된 사용

Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit는 체외 진단 분석(IVD) 의료 장치로서 대변, 가래, 기관지 세척액, 수송 배지의 비인두 도말물, 수송 배지의 경부 도말물, 소변, 혈장과 같은 인간 표본 유형으로부터 자동화된 바이러스, 박테리아 및/또는 기생충 총 핵산 분리를 수행하기 위해 Maxwell® CSC instruments 및 Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid 방법과 결합해 사용하도록 제작되었습니다. 정제된 총 핵산은 증폭 기반 체외 진단 분석에 사용하기에 적합합니다.

Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit는 15°C와 30°C 사이 온도에서 사용하게 되어 있습니다. 이 온도 범위를 벗어나는 사용은 부적절한 결과를 야기할 수 있습니다.

Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit는 전문적인 목적으로만 사용할 수 있습니다. 이 시스템으로 정제된 총 핵산을 사용하여 도출된 진단 결과는 다른 임상 또는 실험실 데이터와 연계하여 해석되어야 합니다.

4. 제품 사용 시 제한 사항

Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit의 성능은 다음과 같이 열거된 표본 유형을 사용한 병원균에 대해 평가되었습니다.

- 박테리아: 대변, 가래, 기관지 세척액, 수송 배지의 비인두 도말물, 수송 배지의 경부 도말물, 소변.
- 기생충: 대변, 수송 배지의 경부 도말물, 소변.
- 바이러스: 대변, 가래, 기관지 세척액, 수송 배지의 비인두 도말물, 수송 배지의 경부 도말물, 소변, 혈장.

Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit는 비 인간 샘플에 사용할 수 없습니다.

Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit로 정제한 핵산을 사용하는 후속 진단 응용 분야는 적절한 대조물질을 반드시 포함해야 합니다. 후속 진단 응용 분야에 필요한 성능 특성을 검증하는 것은 사용자의 책임입니다.

5. 시작하기 전 준비 사항

사용자가 준비해야 하는 재료

- 샘플 배양용 1.5~2.0ml 튜브(예: ClickFit 마이크로튜브, 1.5ml [Cat.# V4741], 가열하는 동안 마개의 열림 방지를 위하여 권장합니다)
- Lysis 용액 준비를 위한 15ml 또는 50ml 코니칼 튜브
- 벤치 탑 볼텍싱 믹서
- 샘플을 미리 채워진 시약 카트리지로 옮기기 위한 피펫터 및 피펫 팁
- 56°C로 설정된 가열 블록 또는 수조
- 가래 및 BAL 샘플을 위해 95°C로 설정된 가열 블록
- **선택 사항:** BAL 및 가래 샘플을 희석하기 위한 1X PBS
- **선택 사항:** 소변 샘플 전처리용 원심분리
- **선택 사항:** 대변 샘플 전처리용 0.1~0.5mm 지르코늄 비드(예: ZR bashing beads, Zymo [Cat. #S6012-50])
- 대변, 가래, 기관지 세척액(BAL), 바이러스 수송 배지(VTM), Pap 배지, 혈장 및 소변 샘플용 튜브



생체 유래 표본을 취급할 때 혈행성 병원균 주의 사항에 따라 것을 권장합니다.

혈장 샘플은 EDTA-항응고제 튜브에 혈액을 채취합니다. 헤파린은 후속 증폭을 억제할 수 있으므로 헤파린이 포함된 혈액 채취 튜브를 사용하지 마십시오.

다음은 샘플을 준비하고 보관하기 위한 일반적인 권장 사항입니다(기준 1-4):

1. 채취된 혈액을 1시간 안에 1,500 × g로 20분 동안 25°C에서 원심 분리하여 혈장을 세포로부터 분리하고, 그다음에 혈장 층을 깨끗한 튜브에 옮깁니다. 혈장을 최대 24시간 동안 2~8°C에서 보관하거나, 또는 24시간 이내에 처리되지 않은 샘플을 최대 5일 동안 -20°C에서 동결합니다.
2. VTM의 채취 면봉의 경우 플라스틱 막대가 있는 합성 섬유 면봉만 사용하십시오. 알긴산칼슘 채취 면봉 또는 나무 막대 채취 면봉을 사용하지 마십시오. 이는 PCR 테스트를 억제하는 물질을 포함하고 있을 수 있습니다. 2~3ml의 바이러스 수송 배지를 포함하는 멸균 튜브에 채취 면봉을 즉시 집어넣으십시오. 최대 72시간 동안 2~8°C에 VTM 샘플을 보관하거나, 또는 -70°C에서 샘플을 동결하십시오. 동결-용해 주기의 반복을 피하고, 자동 성에 제거 장치가 달린 냉장고에 샘플을 보관하지 마십시오. 특정한 수집과 저장 조건은 분리된 바이러스에 따라 다를 수 있습니다.
3. 신선한 소변 샘플을 처리 전 최대 24시간 동안 4°C에서 보관합니다. 장기간 보관의 경우, 20mM의 최종 농도에 EDTA를 첨가합니다. 세포 용해를 방지하기 위해 안정된 소변을 4°C에 보관합니다. 세포 용해를 방지하려면 소변이 냉동되면 안 됩니다. 소변이 냉동 및 해동된 경우, 침전물이 보일 수 있습니다. 샘플을 혼합 및/또는 가열하면 침전물이 다시 용해됩니다. 샘플을 원심분리하면 온전한 병원균 세포가 제거될 수 있으므로 침전물 제거 시 원심분리를 하지 마십시오.
4. 최대 72시간 동안 2~8°C에 BAL 및 가래 샘플을 보관하거나, 또는 -70°C에서 샘플을 동결하십시오. 동결-용해 주기의 반복을 피하고, 자동 성에 제거 장치가 달린 냉장고에 샘플을 보관하지 마십시오. 특정한 수집과 저장 조건은 분리된 병원균에 따라 다를 수 있습니다.
5. 대변 샘플은 처리 전 -20°C에서 -80°C에 냉동합니다.

6. 샘플 준비

6.A. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit와 함께 사용하기 위한 대변 샘플 준비

1. 2ml 나사 마개 마이크로 원심분리기 튜브에 대변 샘플 100~500mg을 계량합니다.
2. 희석버퍼(ST1) 1ml를 재현탁 샘플에 첨가합니다. 30초에서 1분 동안 격렬하게 볼텍싱합니다. 샘플 대 샘플의 오염을 방지하기 위해 각 샘플에 대해 새로운 피펫 팁을 사용합니다.
3. 상온에서 1분 동안 샘플을 1,000 × g로 원심분리합니다.
4. 적절한 크기의 튜브에 상층액을 옮기고 용량을 측정합니다.
5. 희석버퍼(ST1) 2X 용량을 첨가하여 대변 샘플을 1:2로 희석합니다 [예: 대변 상층액 1ml + 희석버퍼(ST1) 2ml]. 해당 대변 샘플 희석액을 DNA 정제에 사용합니다.

참고: 바이러스 RNA 추출 시 대변 샘플을 nuclease-free water에 1:8로 추가로 희석합니다 (예: 1:2로 희석한 대변 샘플 100µl + nuclease-free water 700µl). 처리 준비가 될 때까지 상온에서 샘플을 보관합니다.

대변 샘플에서 용해가 어려운 병원균으로부터 DNA를 추출하는 선택적 비드 비팅 방법

참고: 대변 표본에서 그램 양성 박테리아 또는 원생동물과 같이 용해가 어려운 병원균으로부터 핵산을 추출하기 위해서는 선택적 비드 비팅 단계를 수행할 수 있습니다. 해당 추가 균질화는 표준 용해 방법이 불충분한 경우 핵산 정제 수율을 높일 수 있습니다.

- a. 600µl에서 1ml의 희석된 대변 샘플을 비드가 포함된 2ml 튜브로 옮기고 튜브를 닫습니다.
- b. 튜브를 플레이트 볼텍서나 이와 동일한 것에 배치하고 10분 동안 최대 속도로 볼텍싱 또는 비드 비팅을 합니다.
- c. 마이크로 원심분리기에서 최대 속도로 1분 동안 튜브를 원심분리하여 비드를 샘플로부터 분리합니다.
6. 대변 용해물 300µl를 새로운 1.5ml 튜브에 첨가합니다.
7. Lysis 버퍼 300µl를 첨가하고 10초 동안 볼텍싱하여 혼합합니다.
8. Proteinase K 용액 30µl를 첨가하고 짧게 볼텍싱하여 혼합합니다.
9. 56°C에서 20분 동안 배양합니다.
10. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid cartridge 준비를 진행합니다(섹션 6.E).

6.B. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit와 함께 사용하기 위한 BAL 또는 가래 샘플 준비

1. 냉동된 경우, BAL 또는 가래 샘플을 상온에서 해동합니다.
참고: BAL 및 가래 샘플의 점도를 낮추기 위해 1X PBS의 동일한 용량에서 희석하거나, 기계적으로 균질화하거나, 처리 전에 희석 및 균질화를 합니다.
2. 각 샘플마다 1.5ml 마이크로 원심분리기 튜브에 소변 100~300 μ l를 첨가합니다. (대구경 피펫 사용을 권장합니다). 샘플 대 샘플의 오염을 방지하기 위해 각 샘플에 대해 새로운 피펫 팁을 사용합니다.
3. 1-Thioglycerol 12 μ l를 첨가하고 피펫하여 혼합합니다.
참고: 용액은 점성이 있으므로 천천히 피펫합니다.
4. Lysis 버퍼 300 μ l를 첨가하고 10초 동안 볼텍싱하여 혼합합니다.
5. 95°C에서 5분 동안 배양합니다. 2분 동안 벤치 탑에서 냉각시킵니다.
6. Proteinase K 용액 30 μ l를 첨가하고 짧게 볼텍싱하여 혼합합니다.
7. 56°C에서 20분 동안 배양합니다.
8. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid cartridge 준비를 진행합니다(섹션 6.E).

6.C. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit와 함께 사용하기 위한 소변 샘플 준비

소형 샘플 용량 준비(소변 300µl):

1. 가라앉은 세포를 재현탁하기 위해 소변 샘플을 짧게 볼텍싱합니다.
2. 각 샘플마다 1.5ml 마이크로 원심분리기 튜브에 소변 300µl를 첨가합니다. 샘플 대 샘플의 오염을 방지하기 위해 각 샘플에 대해 새로운 피펫 팁을 사용합니다.
3. Lysis 버퍼 300µl를 첨가하고 10초 동안 볼텍싱하여 혼합합니다.
4. Proteinase K 용액 30µl를 첨가하고 짧게 볼텍싱하여 혼합합니다.
5. 56°C에서 20분 동안 배양합니다.
6. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid cartridge 준비를 진행합니다(섹션 6.E).

대형 샘플 용량 준비(소변 30ml):

1. 가라앉은 세포를 재현탁하기 위해 소변 샘플을 짧게 볼텍싱합니다.
2. 각 샘플마다 50ml 튜브에 소변 30ml를 첨가합니다. 샘플 대 샘플의 오염을 방지하기 위해 각 샘플에 대해 새로운 피펫 팁을 사용합니다.
3. 10분 동안 소변 샘플을 2,000 × g로 원심분리합니다.
4. 피펫으로 상층액을 제거합니다. 펠릿을 건드리지 않도록 주의하십시오.
참고: 일부 액체는 남겨서 펠릿의 온전성을 보존할 수 있습니다(최대 300µl).
5. 튜브에 Lysis 버퍼 300µl를 첨가하고 피펫팅하여 펠릿을 재현탁합니다.
6. 용해물을 1.5ml 튜브에 옮깁니다.
7. Proteinase K 용액 30µl를 첨가하고 짧게 볼텍싱하여 혼합합니다.
8. 56°C에서 20분 동안 배양합니다.
9. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid cartridge 준비를 진행합니다(섹션 6.E).

6.D. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit와 함께 사용하기 위한 혈장, 바이러스 수송 배지 또는 Pap 배지 샘플 준비

1. 냉동된 경우, 혈장 또는 배지를 상온에서 해동하고 짧게 볼텍싱하여 혼합합니다.
2. 각 샘플마다 1.5ml 마이크로 원심분리기 튜브에 혈장 또는 생물학적 샘플을 포함한 배지 300μl를 첨가합니다. 샘플 대 샘플의 오염을 방지하기 위해 각 샘플에 대해 새로운 피펫 팁을 사용합니다.
3. Lysis 버퍼 300μl를 첨가하고 10초 동안 볼텍싱하여 혼합합니다.
4. Proteinase K 용액 30μl를 첨가하고 짧게 볼텍싱하여 혼합합니다.
5. 56°C에서 20분 동안 배양합니다.
6. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid cartridge 준비를 진행합니다(섹션 6.E).

6.E. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Cartridge 준비

1. 카트리지, 플런저 및 용출 튜브(0.5ml)를 취급하기 전에 장갑을 교체합니다. 용출 튜브와 마주하지 않도록 놓은 웰 #1(카트리지의 가장 큰 웰)과 함께 데크 트레이에 사용할 카트리지를 위치시킵니다. 해당 위치에 고정하기 위해 카트리지를 아래로 누릅니다. 모든 플라스틱이 카트리지 상단에서 제거되도록 실크를 조심하여 벗겨내십시오. 장비 안에 카트리지를 위치시키기 전에 모든 실크 테이프 및 잔여 접착제가 제거되었는지 확인하십시오.
2. 플런저 하나를 각 카트리지의 웰 #8에 위치시키십시오.
3. 데크 트레이에 있는 각 카트리지를 위해 용출 튜브 위치로 빈 용출 튜브(0.5ml)를 배치하십시오.
4. 각 용출 튜브의 바닥으로 용출 버퍼 100μl를 첨가하십시오.
5. 튜브 바닥에 있는 액체를 채취하기 위해 마이크로 원심분리기에서 샘플 용해물을 짧게 회전시킵니다. 샘플 용해물을 카트리지의 웰 #1(가장 큰 웰)에 옮깁니다. 카트리지에 샘플 용해물 이외에는 첨가하지 마십시오.
6. 섹션 7, Maxwell® Instrument 설치 및 작동으로 진행하십시오.

참고:

- a. 데크 트레이에 유출된 표본 또는 시약 유출액은 세정 용액으로 세척하고 살균 스프레이 또는 와이프를 사용한 후 물로 씻어야 합니다. 장비의 부품에 표백제를 사용하지 마십시오.
- b. 키트에서 제공된 0.5ml 용출 튜브만 사용하십시오. 다른 튜브는 Maxwell® Instrument와 호환되지 않습니다.

사용자가 첨가하는 웰 내용물

1. 샘플 용해물
8. CSC/RSC 플런저

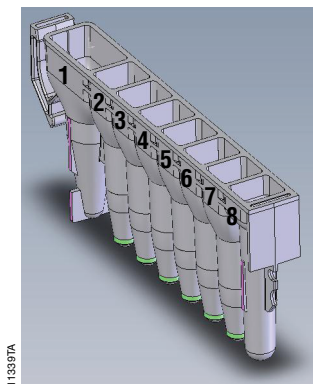


그림 1. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Cartridge. 전처리 된 샘플은 웰 #1에 첨가되고, 플런저는 웰 #8에 첨가됩니다.



그림 2. 데크 트레이의 설치 및 구성. 용출 버퍼를 제시된 바와 같이 용출 튜브에 첨가하십시오. 플런저는 카트리지의 웰 #8 안에 있습니다.

7. Maxwell® Instrument 설치 및 작동

자세한 정보는 Maxwell® Instrument를 위한 기술 설명서를 참조하십시오(표 1 참조).

1. Maxwell® Instrument와 태블릿 PC를 켭니다. 태블릿 PC에 로그인하고, 바탕화면에서 아이콘을 더블 터치하여 Maxwell® IVD 모드 소프트웨어를 시작하십시오. 전체 동작 부품에 대한 자가 테스트와 제 위치 확인을 통해 장비가 가동됩니다.
2. 실행 방법 실행을 시작하려면 **시작** 버튼을 터치하십시오.
3. 실행할 실행 방법을 자동으로 선택하기 위해 Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit의 라벨의 우측 상단 모서리에 있는 실행 방법 바코드를 스캔하거나 입력하십시오(그림 3).

참고: Maxwell® CSC Instruments에서 정제를 하기 위해 Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit 바코드는 필수입니다. 키트 라벨에는 두 개의 바코드가 있습니다. 실행 방법 바코드는 아래 그림 3에 표시되어 있습니다. 바코드를 스캔할 수 없으면, Promega Technical Services로 연락하십시오.

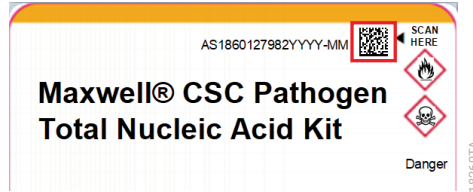


그림 3. 스캔용 실행 방법 바코드를 표시하는 키트 라벨. 정제 실행 시작을 위한 스캔용 바코드는 키트 라벨에서 빨간색 상자 안에 있습니다.

4. '카트리지 설정' 화면에서 카트리지 위치를 터치하여 추출 실행에 사용할 모든 위치를 선택 또는 선택 해제합니다. 필요한 샘플 추적 정보를 모두 입력하고 **진행** 버튼을 눌러 계속합니다.
참고: 48-위치의 Maxwell® Instruments를 사용할 때, **앞으로** 그리고 **뒤로** 버튼을 눌러 각 데크 트레이에서 카트리지 위치를 선택하거나 선택 해제할 수 있습니다.
5. 도어가 오픈된 후, 모든 추출 체크리스트 항목이 수행되었는지 확인하십시오. 샘플에 카트리지의 웰 #1에 첨가되었는지, 카트리지가 장비에 로드되었는지, 그리고 뚜껑이 열린 용출 튜브가 용출 버퍼 및 플런저와 함께 웰 #8에 있는지 확인하십시오. 준비된 카트리지를 포함하는 데크 트레이를 Maxwell® Instrument 플랫폼으로 이동시킵니다.

Maxwell® 데크 트레이 삽입: 데크 트레이에서 카트리지가 이탈되는 것을 방지하기 위해 데크 트레이 측면을 잡으십시오. 도어에 근접한 용출 튜브가 있는 Maxwell® Instrument에 데크 트레이가 위치되어 있는지 확인하십시오. 데크 트레이 후면 각도를 아래쪽으로 낮추어 장비 안으로 넣어 데크 트레이 후면이 장비 플랫폼의 후면에 닿을 수 있게 합니다. 데크 트레이의 전면을 눌러 데크 트레이를 장비 플랫폼에 장착합니다. 데크 트레이를 플랫폼에 맞추기 힘든 경우, 데크 트레이가 올바른 방향으로 되어 있는지 확인하십시오. 데크 트레이가 장비 플랫폼 위에 평평하게 완전히 장착되었는지 확인하십시오.

참고: 24-위치 Maxwell® 데크 트레이에 있는 식별자를 확인하여 장비의 전면 또는 후면에 배치해야 하는지 여부를 결정하십시오.

6. 표시된 전처리가 모두 실행되었는지 확인하고, 장비의 도어를 닫고 처리를 시작하기 위해 **시작**을 터치하십시오.

참고: 48-위치 Maxwell® Instrument를 사용할 때, 비전 시스템이 활성화된 경우 도어가 닫히면서 데크 트레이가 스캔 됩니다. 데크 트레이 설정의 오류(예: 플런저가 #8 웰에 들어가 있지 않고, 용출 튜브가 존재하지 않거나 열려 있음)는 소프트웨어가 '카트리지 설정' 화면으로 되돌아가게 하며, 문제 위치에는 느낌표가 들어간 빨간색 원이 표시됩니다. 오류에 대한 설명은 느낌표를 터치하고 모든 오류 상태를 해결합니다. **시작** 버튼을 다시 터치해 데크 트레이의 스캐닝을 반복하고 추출 작동을 시작합니다.



경고: 펀치 포인트 위험.

Maxwell® Instrument가 즉시 정제법을 실행합니다. 화면에 실행을 개시한 사용자, 수행 중인 현재 실행 방법 단계 및 대략 남은 실행 시간을 포함하는 정보가 표시됩니다.

참고:

- a. **중단** 버튼을 터치하여 실행을 중지합니다. 실행이 중단된 모든 샘플은 손실됩니다.
 - b. 실행이 완료되기 전에 중단된 경우, 플런저가 여전히 플런저 막대에 장착되어 있는지 확인하라는 메시지가 표시될 수 있습니다. 플런저 막대에 플런저가 있으면 요청 시 **클린업**을 수행해야 합니다. 플런저 막대에 플런저가 없으면 **클린업**을 수행하지 않기로 선택할 수 있습니다. 이 경우 샘플이 손실됩니다. 장비의 작동이 중단되었을 경우, 샘플을 다시 정제하지 마십시오.
7. 실행 방법 종료 시 도어를 열기 위해 온-스크린 지침을 따르십시오. 실행 종료 시 플런저가 카트리지의 웰 #8에 위치 하는지 확인하십시오. 플런저가 플런저 막대에서 제거되지 않은 경우, Maxwell® Instrument에 대한 기술 설명서(표 1)의 지침에 따라 **클린업** 절차를 수행해 플런저를 장착 해제합니다.
 8. 장비에서 데크 트레이를 제거하십시오. 병원균 총 핵산을 포함하는 용출 튜브를 제거하고, 튜브에 마개를 씌웁니다. 용출 튜브에 상자성 입자가 존재하는 경우, 10,000~20,000 × g로 30초에서 1분간 원심분리합니다. 그리고 상층액을 보관 튜브(미제공)로 옮깁니다. 실행이 완료되면, 추출 실행 보고서가 표시됩니다. '보고서 표시' 화면을 통해, 이 보고서를 인쇄하거나 내보내기 또는 둘 다 할 수 있습니다.
 9. 데크 트레이에서 카트리지와 플런저를 제거하고, 해당 연구소의 권장된 절차에 따라 유해 폐기물을 폐기하십시오. 시약 카트리지와 플런저 또는 elution 튜브를 재사용하지 마십시오.

참고: 핵산의 손상을 방지하기 위해 장비의 필요한 자외선 처리를 수행하기 전 샘플을 확실히 제거하십시오.

8. 용출된 핵산 보관

샘플을 즉시 처리하지 않을 경우, 용출된 병원균 DNA를 얼음이나 4°C에서 최대 24시간 동안 보관합니다. 장기 보관을 위해서는 -20°C 또는 -70°C에서 동결하십시오. RNA는 분리 직후 덜 안정적이므로 후속 분석에서 검사하는 것이 더 낫습니다. 분리 직후 테스트하는 경우, 병원균 RNA를 얼음이나 4°C에서 보관합니다. 또는, 용출된 병원균 RNA를 -70°C에서 보관합니다. 특정 샘플에 대한 후속 응용 및 권장 사항 취급에 대해서는 지침서를 참조하십시오.

9. 분석 성능 평가

Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit의 분석 성능 평가는 Maxwell® CSC 및 Maxwell® CSC 48 Instrument에서 처리한 불활성화 병원균을 첨가한 다양한 샘플 유형을 사용하여 수행되었습니다.

9.A. DNA 수량, 품질 및 증폭 가능성

총 핵산은 대변 현탁액 복제본 300μl로부터 추출되었으며, 각각 표준 또는 비드 비팅 전처리 방법을 사용하여 불활성화 *Giardia lamblia* 복사본이 약 2.5×10^4 첨가되었습니다. 총 핵산은 용출 버퍼 100μl를 사용하여 용출되었습니다. 각 희석되지 않은 용출액의 5마이크로리터가 qPCR 분석에서 사용되어 *G. lamblia*에 대한 DNA 특정 표적을 증폭했습니다. 표준 방법을 사용하여 생성된 평균 C_q 는 34.39 주기였습니다. 비드 비팅 방법을 사용하여 생성된 평균 C_q 는 29.35 주기였습니다.

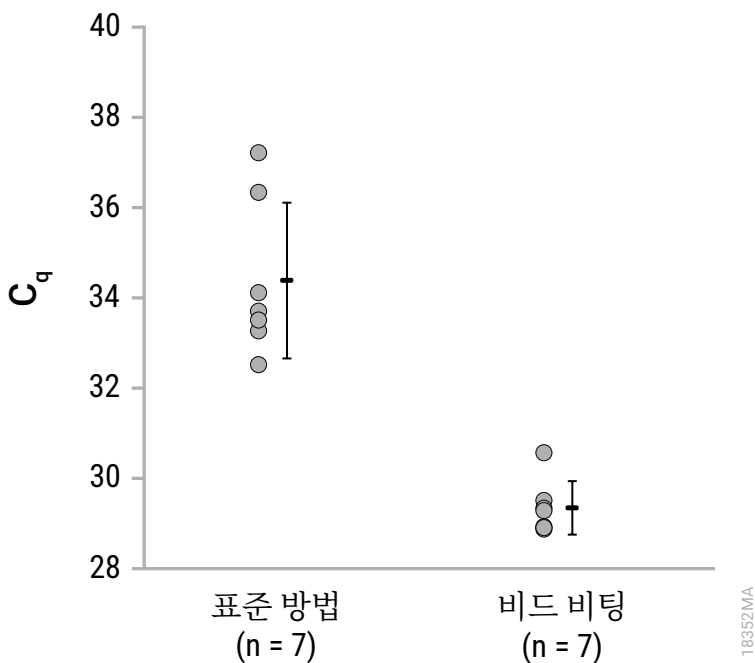


그림 4. 표준 대 비드 비팅 방법을 사용하여 대변 샘플에서 추출한 총 핵산을 사용한 *G. lamblia* 표적 DNA 시퀀스 증폭.

9.B. RNA 수량, 품질 및 증폭 가능성

Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit의 성능이 Maxwell® CSC 또는 Maxwell® CSC 48 Instrument 중 어느 것과 함께 사용해도 유사하다는 것을 입증하기 위해, 두 instrument의 키트를 사용하여 불활성화 SARS CoV-2 바이러스 복사본이 1×10^4 첨가된 여덟 개의 가래 샘플 복제본 300 μ l로부터 총 핵산을 추출했습니다. 총 핵산은 용출 버퍼 100 μ l에서 용출되었으며, 각 용출액의 5 μ l가 RT-qPCR 분석에서 사용되어 SARS CoV-2 특정 표적 RNA 시퀀스를 증폭했습니다. Maxwell® CSC Instrument 및 Maxwell® CSC 48 Instrument를 사용하여 추출한 총 핵산으로부터 얻은 RT-qPCR 결과의 비교는 모든 $|\Delta C_q|$ 값이 ≤ 0.59 주기이며, 평균 $|\Delta C_q|$ 는 0.16 주기라는 것을 보여줍니다.

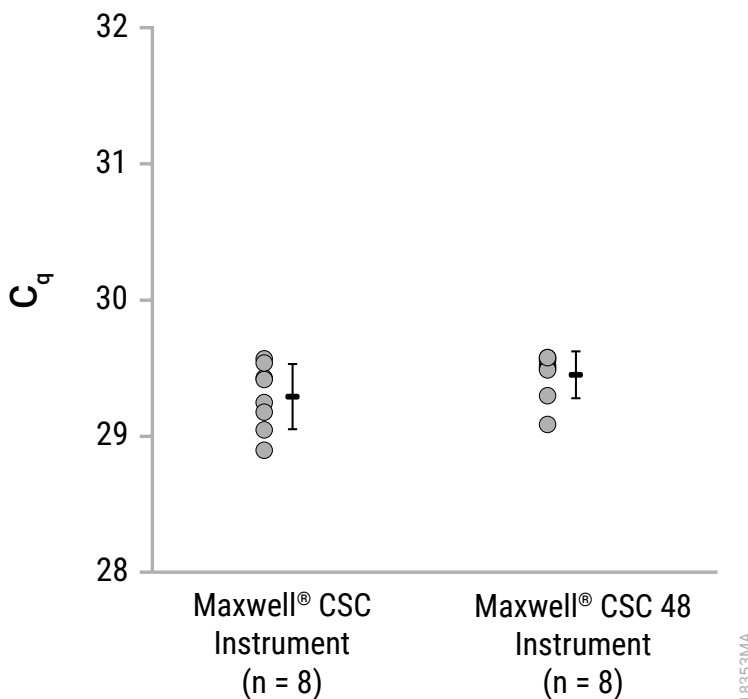


그림 5. SARS CoV-2를 포함한 가래 샘플로부터 Maxwell® CSC 또는 Maxwell® CSC 48 Instrument를 사용해 추출한 총 핵산의 증폭 가능성.

9.B. RNA 수량, 품질 및 증폭 가능성(계속)

총 핵산은 기관지 세척액(BAL) 샘플 300 μ l 및 100 μ l에서 동시에 정제되었으며, 샘플 기질의 서로 다른 양이 증폭 가능성에 끼치는 영향을 평가하기 위해 각각 불활성화 SARS CoV-2 바이러스 복사본을 1×10^4 첨가했습니다. 총 핵산은 용출 버퍼 100 μ l에서 용출되었으며, 각 희석되지 않은 용출액의 5 μ l가 RT-qPCR 분석에서 사용되어 SARS CoV-2 특정 표적 RNA 시퀀스를 증폭했습니다. 아래 300 μ l에서 정제한 총 핵산의 모든 C_q 값은 ≤ 30.86 주기였으며, 평균 C_q 는 30.56 주기였습니다. BAL 100 μ l에서 정제한 총 핵산의 모든 C_q 값은 ≤ 29.93 주기였으며, 평균 C_q 는 29.74 주기였습니다.

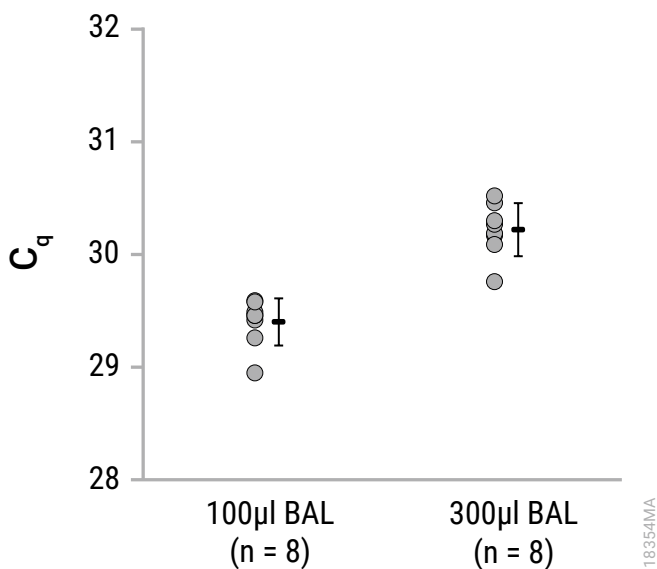


그림 6. 서로 다른 샘플 입력 용량에서 추출한 총 핵산을 이용한 SARS CoV-2 표적 RNA 시퀀스의 증폭.

9.C. 재현성

Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit를 사용하여 사용자 사이에서 총 핵산 추출의 재현성을 평가하기 위해, 세 명의 사용자가 각각 *Bordetella pertussis*가 첨가된 다섯 개의 바이러스 수송 배지(UTM) 복제본 300μl를 전처리했으며, 동일한 Maxwell® CSC Instrument 실행에서 총 핵산을 추출했습니다. 핵산은 용출 버퍼 100μl에서 용출되었습니다. 5마이크로리터의 희석되지 않은 용출액이 *B. pertussis* 특정 표적 DNA 시퀀스를 증폭하기 위해 qPCR 증폭에 사용되었고, 표준 C_q 및 표준 편차를 계산했습니다. 총 핵산 정제는 재현 가능했으며, 표준 편차는 0.31 주기(사용자 1), 0.23 주기(사용자 2), 0.40 주기(사용자 3)였습니다. 세 명의 사용자 모두에 걸쳐 표준 편차는 0.32 주기였습니다.

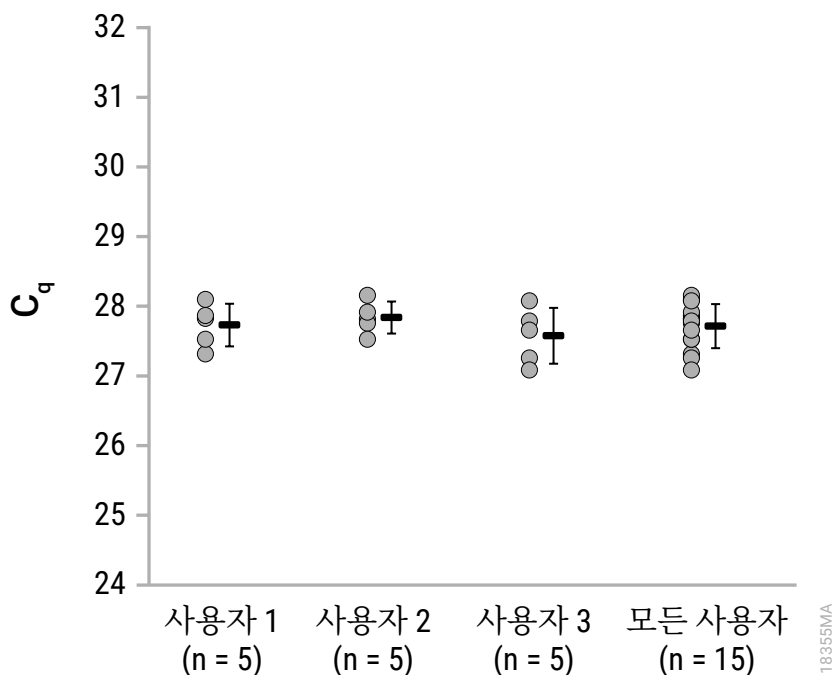


그림 7. 세 명의 사용자에서 총 핵산 추출의 재현성.

9.C. 재현성 (계속)

서로 다른 추출 실행 사이에서 총 핵산 추출의 재현성을 평가하기 위해, 한 사용자가 각각 *B. pertussis*가 첨가된 여덟 개의 UTM 300 μ l 복제본으로 Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit를 Maxwell® CSC Instruments와 함께 사용하여 세 번의 다른 총 핵산 추출 실행을 수행하였습니다. 각 세 번의 개별 실행에서 총 핵산은 용출 버퍼 100 μ l에 용출되었습니다. 희석되지 않은 용출액 5마이크로리터가 *B. pertussis* 특정 표적 DNA 시퀀스를 증폭하기 위해 qPCR 증폭에 사용되었고, 표준 C_q 및 표준 편차를 계산했습니다. 총 핵산 정제는 재현 가능했으며, 표준 편차는 0.25 주기(실행 1), 0.40 주기(실행 2), 0.22 주기(실행 3)였습니다. 세 번의 실행 모두에 걸쳐 표준 편차는 0.43 주기였습니다.

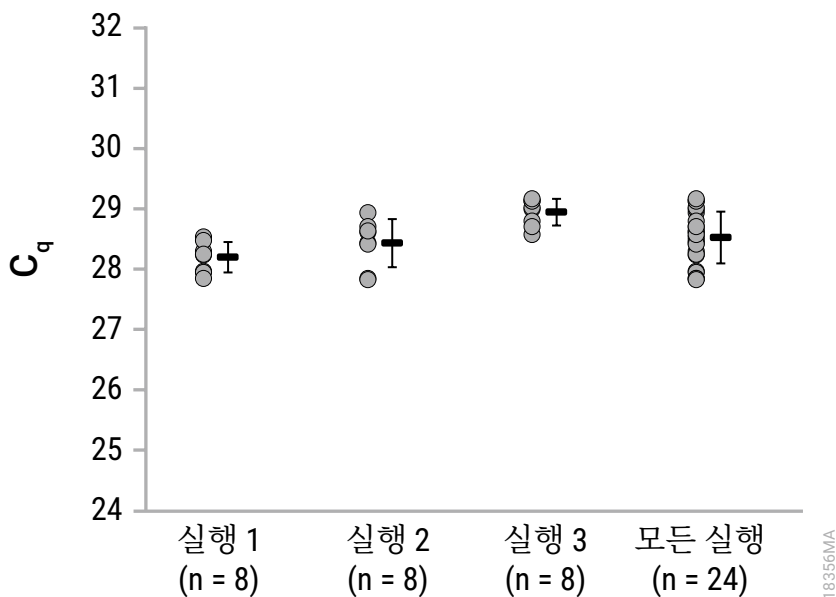


그림 8. 한 사용자가 수행한 세 번의 추출 실행에서의 총 핵산 추출 재현성.

Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit의 서로 다른 로트 사이의 총 핵산 추출 재현성을 평가하기 위해, 각각 중요 시약의 고유 로트를 포함한 세 개 키트 로트를 사용하여 *B. pertussis*가 첨가된 UTM 복제본 300µl로부터 총 핵산을 정제했습니다. 각 희석되지 않은 용출액이 *B. pertussis* 특정 표적 DNA 시퀀스를 증폭하기 위해 qPCR 증폭에 사용되었고, 표준 C_q 및 표준 편차를 계산했습니다. 로트 1을 사용하여 생성된 C_q 값의 표준 편차는 0.38 주기였습니다. 로트 2는 0.30 주기이고, 로트 3은 0.35 주기였습니다. 세 개 로트 모두에 걸쳐 C_q 표준 편차는 0.34 주기였습니다.

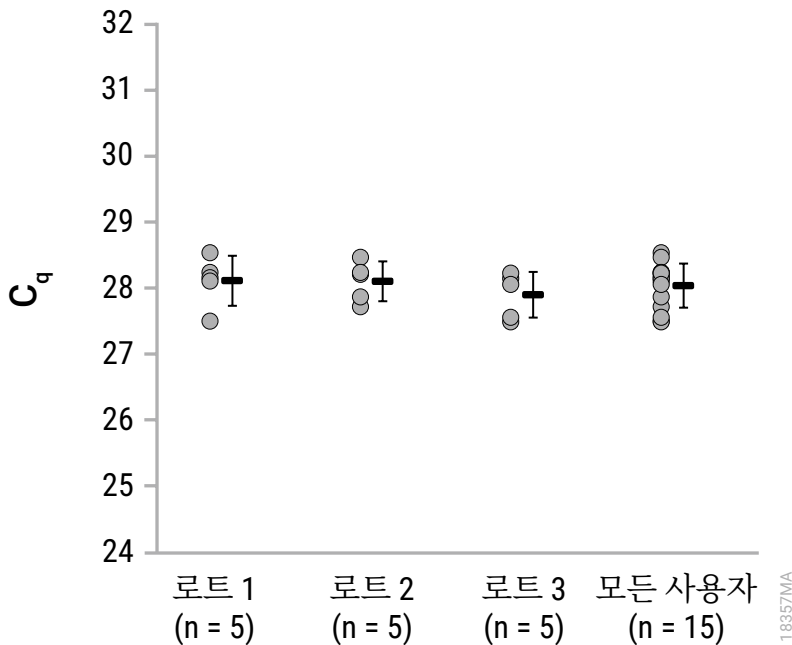


그림 9. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit의 세 개의 다른 장비 로트에서 총 핵산 추출 재현성.

9.D. 간섭 물질로 인한 증폭 억제

핵산과 함께 정제되는 간섭 물질로 인한 증폭 억제를 평가하기 위해 총 핵산이 불활성화 *Clostridium difficile* 세포가 3×10^4 첨가된 여덟 개의 대변 현탁액 300 μ l로부터 정제되었습니다. 각 희석되지 않은 총 핵산 용출액 5마이크로리터 및 10배로 희석된 각 용출액이 qPCR 분석에 사용되어 *C. difficile* 특정 DNA 표적을 증폭하였고 간섭 물질의 효과를 평가했습니다. Maxwell® CSC Instrument의 경우, 희석되지 않은 용출액의 모든 C_q 값은 ≤ 27.57 주기였으며, 평균 C_q 는 26.93 주기였습니다. Maxwell® CSC 48 Instrument의 경우, 희석되지 않은 용출액의 모든 C_q 값은 ≤ 27.24 주기였으며, 평균 C_q 는 27.03 주기였습니다. 개별 용출액 내의 억제를 평가하기 위해 희석되지 않은 용출액과 10배로 희석된 용출액의 C_q 값을 비교했고, 예상 ΔC_q 는 억제가 없다는 것을 나타내는 >2.5 주기였습니다. 개별 샘플에서 희석되지 않은 용출액 및 10배로 희석된 용출액의 ΔC_q 범위는 3.24~3.59이었고, 이는 용출액에 존재하는 간섭 물질이 최소한의 간섭을 유발한다는 것을 나타냅니다.

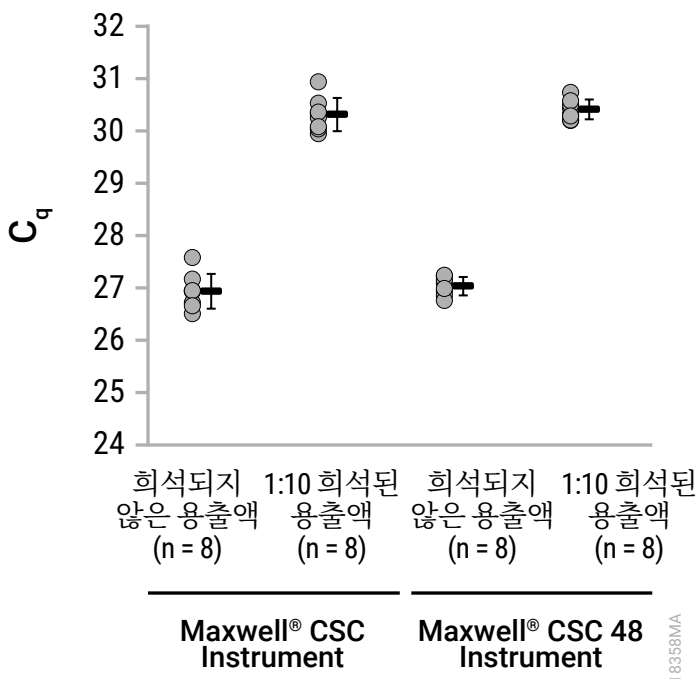


그림 10. Maxwell® CSC or the Maxwell® CSC 48 Instrument를 사용하여 추출한 총 핵산의 증폭 억제 평가.

총 핵산은 불활성화 *Chlamydia pneumoniae* 복사본이 약 9×10^4 첨가된 여덟 개의 300 μ l 가래 또는 BAL 샘플 복제본에서 추출되었으며 용출 버퍼 100 μ l에서 용출되었습니다. 각 희석되지 않은 총 핵산 용출액 5마이크로리터 및 10배로 희석된 각 용출액 5 μ l이 qPCR 분석에 사용되어 *C. pneumoniae* 특정 DNA 표적을 증폭하였고 간섭 물질의 효과를 평가했습니다. 가래의 희석되지 않은 총 핵산 용출액의 모든 C_q 값은 ≤ 26.59 주기였으며, 평균 C_q 는 26.48 주기였습니다. 가래의 총 핵산 용출액의 1:10 희석액의 평균 C_q 값은 29.83 주기였으며, 희석된 샘플과 희석되지 않은 샘플 사이의 평균 C_q 차이는 3.35 주기였습니다. BAL의 희석되지 않은 용출액의 모든 C_q 값은 ≤ 26.64 주기였으며, 평균 C_q 는 26.41 주기였습니다. BAL의 총 핵산 용출액의 1:10 희석액의 평균 C_q 값은 29.83 주기였으며, 희석된 샘플과 희석되지 않은 샘플 사이의 평균 C_q 차이는 3.42 주기였습니다. 이는 용출액에 존재하는 간섭 물질이 최소한의 억제를 유발한다는 것을 나타냅니다.

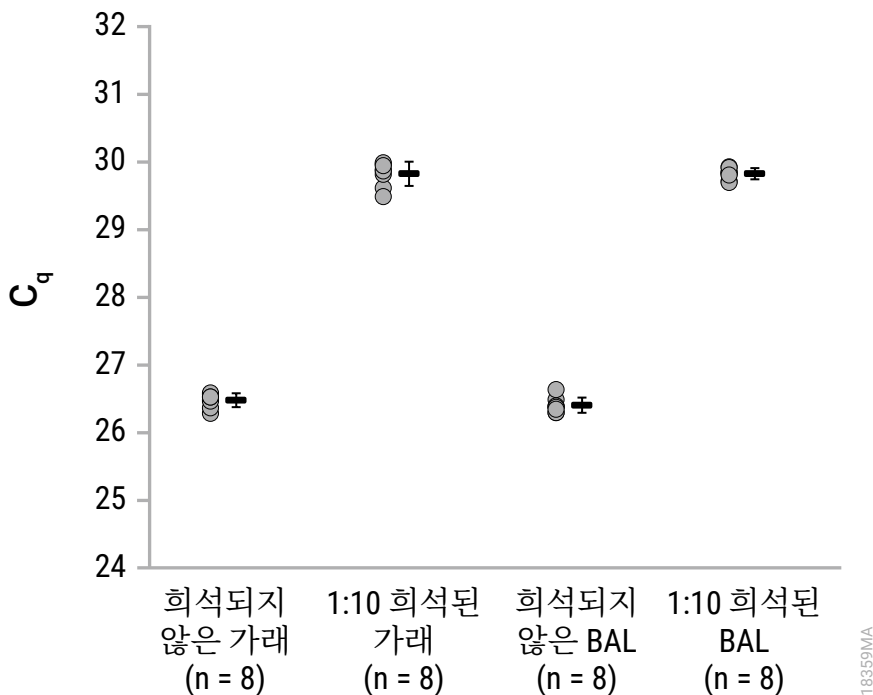


그림 11. 가래 및 BAL 샘플에서 추출한 총 핵산의 증폭 억제 평가.

9.D. 간섭 물질로 인한 증폭 억제 (계속)

불활성화 *B. pertussis*를 첨가한 UTM 샘플에서 총 핵산을 추출하고 생성된 총 핵산을 qPCR로 증폭하여 증폭 억제를 평가했습니다. 간단하게, 총 핵산은 불활성화 *B. pertussis* 복사본이 약 1×10^4 첨가된 여덟 개의 300 μ l UTM 복제본에서 추출되었고 용출 버퍼 100 μ l에서 용출되었다. 각 희석되지 않은 총 핵산 용출액 5마이크로리터 및 10배로 희석된 각 용출액이 qPCR 분석에 사용되어 *B. pertussis* 특정 DNA 표적을 증폭하였고 간섭 물질의 효과를 평가했습니다. UTM 샘플로부터 얻은 희석되지 않은 용출액의 평균 C_q 는 25.97 주기였습니다. 용출액의 1:10 희석액의 평균 C_q 는 29.49 주기였으며, 희석된 샘플과 희석되지 않은 샘플 사이의 평균 C_q 차이는 3.52 주기였습니다. 이는 용출액에 존재하는 간섭 물질이 최소한의 억제를 유발한다는 것을 나타냅니다.

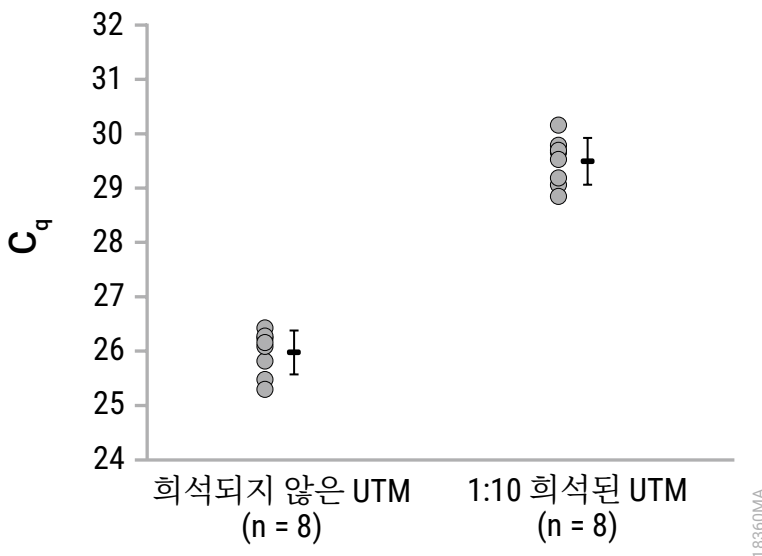


그림 12. *B. pertussis*가 첨가된 UTM 샘플에서 추출한 총 핵산의 증폭 억제 평가.

불활성화 단순 포진 바이러스 1(HSV-1)이 첨가된 UTM 샘플로부터 총 핵산을 추출해 증폭 억제 평가를 평가했습니다. 총 핵산은 불활성화 HSV-1 복사본이 약 1×10^5 첨가된 여덟 개의 300 μ l UTM 복제본에서 추출되었고 용출 버퍼 100 μ l에서 용출되었습니다. 각 희석되지 않은 총 핵산 용출액 5마이크로리터 및 10배로 희석된 각 용출액 5 μ l이 qPCR 분석에 사용되어 HSV-1 특정 DNA 표적을 증폭하였고 간섭 물질의 효과를 평가했습니다. 희석되지 않은 용출액의 모든 C_q 값은 ≤ 27.25 주기였으며, 평균 C_q 는 26.88 주기였습니다. 개별 샘플에서 희석되지 않은 용출액 및 10배로 희석된 용출액의 ΔC_q 범위는 3.44에서 3.91이었고, 이는 용출액에 존재하는 간섭 물질이 최소한의 억제를 유발한다는 것을 나타냅니다.

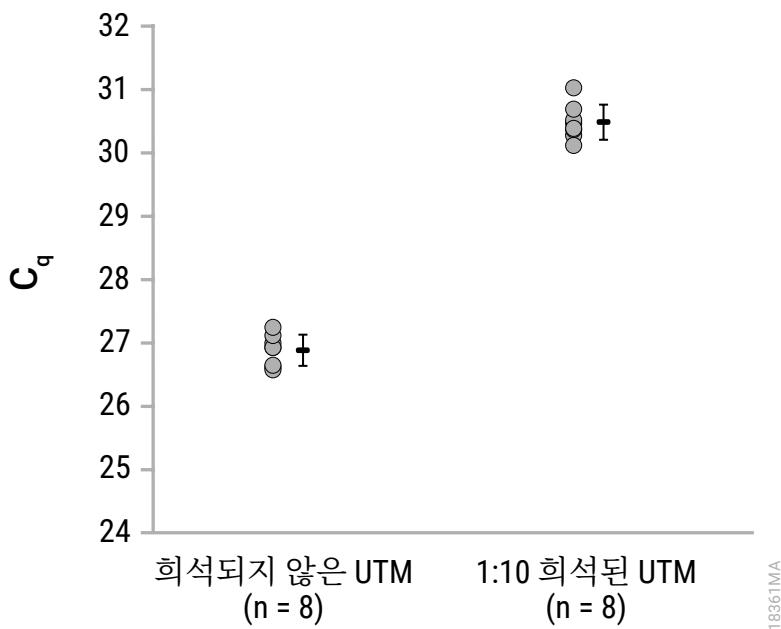


그림 13. HSV-1이 첨가된 UTM 샘플에서 추출한 총 핵산의 증폭 억제 평가.

9.E. 교차 오염

교차 오염은 Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit를 Maxwell® CSC Instrument와 함께 사용하여 불활성화 *B. pertussis* 가 첨가된 UTM 샘플을 포함한 것과 *B. pertussis*가 첨가되지 않은 음성 UTM 샘플을 포함한 Maxwell® CSC cartridges를 Maxwell® 데크 트레이의 단일 총 핵산 추출 실행에서 교대하면서 평가했습니다. *B. pertussis* 양성 및 음성 UTM 샘플 두 가지의 용출액은 *B. pertussis* 특정 DNA 표적을 증폭하기 위해 qPCR 분석에서 사용되었으며, 생성된 C_q 값은 *B. pertussis* 표적 시퀀스를 가진 합성 DNA의 연속 희석을 사용하여 생성된 표준 곡선(10^1 – 10^6 복사본)과 비교했습니다. *B. pertussis*가 첨가된 모든 UTM 용출액의 C_q 값은 표준 곡선 내에 있었으며, 평균 C_q 는 25.42 주기였습니다. *B. pertussis*가 첨가되지 않은 모든 음성 UTM 용출액의 C_q 값은 표준 곡선의 가장 낮은 DNA 농도에서 얻은 C_q 보다 높았습니다(10 복사본).

10. 임상 성능 평가

Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit의 임상 성능 평가는 Maxwell® CSC 48 instrument를 사용해 아래에 명시된 임상 샘플 유형의 병원균 핵산을 추출하고 임상적 관련 분석에서 핵산을 증폭하여 외부 임상 실험실에서 수행했습니다.

표 2. 대변 표본의 *Clostridium difficile* 총 핵산 추출. 한 테스트는 Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit를 사용하여 열 개의 *Clostridium difficile* (*C. difficile*) 양성 및 열 개의 *C. difficile* 음성 인간 대변 표본 각 200mg로부터 총 핵산을 추출했습니다. 참고를 위해 실험실의 표준 정제 방법을 사용하여 이들 표본으로부터 핵산도 정제했습니다. 생성된 용출액은 qPCR 분석에서 *C. difficile* Toxin A 및 Toxin B DNA 표적의 증폭에 의해 분석되었습니다. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit로 추출한 모든 예측된 *C. difficile* 음성 및 *C. difficile* 양성 표본에서 정제한 핵산은 예상된 결과를 나타냈고, 실험실 기준 추출 방법을 사용하여 추출한 핵산으로부터 얻은 결과와 일치하는 것을 입증했습니다.

	Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid System	실험실 기준 방법
<i>C. difficile</i>-음성 상태와 일치하는 표본	10/10	10/10
<i>C. difficile</i>-양성 상태와 일치하는 표본	10/10	10/10

표 3. 기관지 세척액(BAL) 표본의 시토메갈로 바이러스 총 핵산 추출. 한 테스트는 Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit를 사용하여 열 개의 시토메갈로 바이러스(CMV) 양성(100µl 및 300µl) 및 열 개의 CMV 음성(300µl) 인간 BAL 표본으로부터 총 핵산을 추출했습니다. 또한, 참고를 위해 실험실 표준 정제 방법을 사용하여 동일한 열 개의 CMV 양성 및 열 개의 CMV 음성 BAL 표본 300µl로부터 총 핵산을 추출했습니다. 생성된 용출액은 qPCR 분석에서 CMV 주요 전초기 유전자 DNA 표적의 증폭에 의해 분석되었습니다. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit로 추출한 모든 예측된 CMV 음성 및 CMV 양성 표본(둘 다 100µl 및 300µl)에서 정제된 핵산은 예상된 결과를 나타냈고, 실험실 기준 추출 방법을 사용하여 추출한 핵산으로부터 얻은 결과와 일치하는 것을 입증했습니다.

	Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid System	실험실 기준 방법
CMV 음성 상태와 일치하는 표본	300µl 입력 용량에서 10/10	300µl 입력 용량에서 10/10
CMV 양성 상태와 일치하는 표본	100µl 입력 용량에서 10/10 300µl 입력 용량에서 10/10	300µl 입력 용량에서 10/10

표 4. 바이러스 수송 배지(VTM) 표본의 SARS-CoV-2 총 핵산 추출. 두 테스트는 비인두 도말물 표본을 포함한 VTM 300ul로부터 총 핵산을 추출했습니다. 두 테스트는 Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit를 사용하여 열 개의 SARS CoV-2 양성 및 열 개의 SARS CoV-2 음성 인간 VTM 표본에서 총 핵산을 추출했습니다. 한 테스트는 참고를 위해 실험실의 표준 정제 방법을 사용하여 동일한 표본으로부터 핵산도 추출했습니다. 생성된 용출액은 qPCR 분석에서 SARS CoV-2 RdRP 및 N 유전자 증폭에 의해 분석되었습니다. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit로 추출한 모든 SARS CoV-2 음성 및 SARS CoV-2 양성 표본에서 두 테스트가 정제한 핵산은 예상된 결과를 나타냈고, 실험실 기준 추출 방법을 사용하여 추출한 핵산으로부터 얻은 결과와 일치하는 것을 입증했습니다.

	Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid System	실험실 기준 방법
SARS-CoV-2-음성 상태와 일치하는 표본	테스터 A에서 10/10 테스터 B에서 10/10	10/10
SARS-CoV-2-양성 상태와 일치하는 표본	테스터 A에서 10/10 테스터 B에서 10/10	10/10

10. 임상 성능 평가 (계속)

표 5. Pap 배지 표본에서의 인유두종 바이러스 총 핵산 추출. 한 테스트는 인간 환자에서 채취한 경부 브러싱이 포함된 ThinPrep® PAP 배지 표본 300µl로부터 총 핵산을 추출했습니다. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit를 사용하여 아홉 개의 인유두종 바이러스(HPV) 양성 및 아홉 개의 HPV 음성 Pap 배지 표본으로부터 총 핵산을 추출했습니다. 참고를 위해 실험실의 표준 정제 방법을 사용하여 동일한 표본으로부터 핵산도 추출했습니다. 생성된 용출액은 qPCR 분석에서 HPV-16, HPV-18 및 고위험 HPV DNA 표적의 증폭에 의해 분석되었습니다. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit로 추출한 모든 HPV 양성 Pap 배지 표본에서 추출한 핵산은 예상된 결과를 나타냈고, 실험실 기준 추출 방법을 사용하여 추출한 핵산으로부터 얻은 결과와 일치하는 것을 입증했습니다.

	Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid System	실험실 기준 방법
HPV 음성 상태와 일치하는 표본	9/9	9/9
HPV 양성 상태와 일치하는 표본	9/9	9/9

표 6. 소변 표본의 시토메갈로 바이러스 총 핵산 추출. 한 테스트는 Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit를 사용하여 열 개의 CMV 양성 및 열 개의 CMV 음성 인간 소변 표본 각 300µl로부터 총 핵산을 추출했습니다. 참고를 위해 실험실의 표준 정제 방법을 사용하여 동일한 표본으로부터 핵산도 추출했습니다. 생성된 용출액은 qPCR 분석에서 CMV 주요 전초기 유전자 DNA 표적의 증폭에 의해 분석되었습니다. 모든 CMV 음성 인간 소변 표본과, 열 개 중 아홉 개의 CMV 양성 인간 소변 표본은 실험실 기준 추출 방법에 따라 추출한 핵산을 사용하여 얻은 결과와 일치하는 것을 입증했습니다. 하나의 예측된 CMV 양성 소변 표본은 Maxwell® CSC 정제 시스템에서는 음성 결과를, 실험실 기준 방법을 사용했을 때에는 약양성(테스트한 총 다섯 개의 복제본에서 양성 결과를 가진 네 개의 복제본의 최저 C_q는 36.26) 결과를 나타내어 두 정제 방법 사이에서 불일치했습니다.

	Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid System	실험실 기준 방법
CMV 음성 상태와 일치하는 표본	10/10	10/10
CMV 양성 상태와 일치하는 표본	9/10	10/10

표 7. 혈장 표본의 시토메갈로 바이러스 총 핵산 추출. 한 테스터는 Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit를 사용하여 열 개의 CMV 양성 및 열 개의 CMV 음성 인간 혈장 표본 각 300µl로부터 총 핵산을 추출했습니다. 참고를 위해 실험실의 표준 정제 방법을 사용하여 동일한 표본으로부터 핵산도 추출했습니다. 생성된 용출액은 qPCR 분석에서 CMV 주요 전초기 유전자 DNA 표적의 증폭에 의해 분석되었습니다. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit로 추출한 모든 CMV 음성 및 CMV 양성 인간 혈장 표본에서 정제한 핵산은 예상된 결과를 나타냈고, 실험실 기준 추출 방법을 사용하여 추출한 핵산으로부터 얻은 결과와 일치하는 것을 입증했습니다.

	Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid System	실험실 기준 방법
CMV 음성 상태와 일치하는 표본	10/10	10/10
CMV 양성 상태와 일치하는 표본	10/10	10/10

Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit를 사용하는 의도된 사용자 환경에서 발생한 교차 오염은 CMV 양성 및 CMV 음성 인간 혈장 표본이 포함된 Maxwell® CSC cartridges를 Maxwell® CSC 48 Instrument 데크 트레이의 단일 총 핵산 추출 실행에서 교대하면서 평가했습니다. 음성 샘플이 CMV DNA 표적에 대한 qPCR 분석에서 음성 결과를 나타내어 교차 오염이 관찰되지 않았습니다.

11. 리보뉴클레아제가 없는 환경 만들기

리보뉴클레아제는 불활성이 매우 중요합니다. 분리하는 동안과 분리 이후 RNA를 함유한 총 핵산 샘플에 RNase가 활성화되지 않도록 주의하십시오. 이는 출발 물질이 구하기 어렵거나 대체 불가능한 경우 특히 중요합니다. 다음 참고 사항은 실수로 샘플이 RNase로 오염되는 것을 방지하는 데 도움이 됩니다.

1. RNase 오염의 가장 일반적인 오염원 중 두 가지는 사용자의 손 그리고 부유 분진 입자에 존재할 수 있는 박테리아 또는 곰팡이입니다. 이러한 오염원으로부터 오염을 방지하기 위해, 이 시스템과 함께 제공된 시약을 취급할 때는 살균 기술을 사용하십시오. 항상 장갑을 착용하십시오. 리보뉴클레아제와 접촉할 때마다 항상 장갑을 교체하십시오.
2. RNA를 포함한 총 핵산을 취급하기 위해 가능하면 멸균된, 일회용 플라스틱 제품을 사용해야 합니다. 이러한 재료들은 일반적으로 RNase가 없으며 RNase를 불활성화하기 위해 전처리를 할 필요가 없습니다.
3. 사용하기 전에 비멸균 유리 제품, 플라스틱 제품 및 전기영동 챔버를 처리하여 RNase가 없음을 확인하십시오. 유리 제품을 200°C에서 하룻밤 동안 열처리하고, 플라스틱 제품은 0.1N NaOH, 1mM EDTA로 철저히 세정한 후 RNase가 없는 물로 헹굽니다. 제조자의 지침에 따라 상업적으로 시판되는 RNase 제거 제품도 사용할 수 있습니다.

참고: 전기영동 챔버는 DNA 샘플 분석으로 리보뉴클레아제, 특히 RNase A에 오염될 수 있습니다. 가능하면, 신규 또는 오염되지 않은 기구를 RNA 분석 전용으로 따로 놔두십시오.

4. 본 시스템과 함께 제공되지 않는 용액은 흡 후드에서 0.1%v/v의 디에틸 피로카보네이트(DEPC)를 첨가하여 처리합니다. 후드에서 교반하면서 실온에서 하룻밤 배양합니다. DEPC의 흔적을 제거하기 위해 30분 동안 가압 멸균합니다.



주의: DEPC는 발암성이 의심되므로 화학 흡 후드에서 사용되어야 합니다. DEPC는 아민과 급격한 반응을 하며, Tris 버퍼를 처리하는 데 사용할 수 없습니다.

참고: 모든 후속 응용 분야를 위해, RNA 샘플을 RNase로부터 지속해서 보호해야 합니다. 깨끗한 장갑을 착용하고 RNase가 없는 용액 및 원심분리 튜브를 사용하십시오.

12. 참고 자료

1. Clinical Laboratory Standards Institute (2020) CLSI MM13–Collection, transport, preparation and storage of specimens for molecular methods. Second Edition.
2. Baron, E.J. (2015) Specimen collection, transport, and processing: Bacteriology. In: *Manual of Clinical Microbiology, 11th Edition*, edited by Jorgensen, J.H. et al. 270–315. Washington, D.C., ASM Press.
3. Centers for Disease Control and Prevention. *Interim Guidelines for Collecting and Handling of Clinical Specimens for COVID-19 Testing*. 2022년 11월 2일 액세스: www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/guidelines-clinical-specimens.html
4. Centers for Disease Control and Prevention. *Stool Specimens - Molecular Diagnosis*. 2022년 11월 2일 액세스: www.cdc.gov/dpdx/diagnosticprocedures/stool/moleculardx.html

13. 문제 해결

본 문서에서 해결되지 않는 문제가 있는 경우, 현지 Promega 지사나 대리점으로 문의하십시오. 다음 주소에서 연락처 정보를 확인할 수 있습니다. www.promega.com. 이메일: techserv@promega.com

증상	원인과 설명
예상보다 낮은 병원균 핵산 복구 (예: 고객이 제공한 내부 대조물질의 경우)	시작 샘플이 손상되었습니다. 샘플이 권장 지침에 따라 수집, 배송 및 보관되었는지 확인하십시오. RNA 바이러스 샘플의 경우, 리보뉴클레아제가 없는 튜브와 피펫 팁을 포함하여 샘플 준비 및 분석 설정을 위해 리보뉴클레아제가 없는 조건인지 확인하십시오. 최적의 처리 단계가 아닙니다. • 이 키트와 함께 제공된 Lysis 버퍼만 사용합니다. • 불완전한 혼합은 용해를 감소시킬 수 있습니다. 샘플은 권장된 Lysis 용액과 함께 볼텍싱하십시오. • 바이러스 캡시드 및/또는 박테리아 및 기생충의 단백질을 제거하기 위한 불안정한 단백질 분해 효소 처리. 가열 블록 또는 수조 온도를 확인하고, 권장된 전체 시간 동안 배양합니다. • 용해가 어려운 대변 내 병원균으로 작업할 때(그램 양성 박테리아 또는 기생충), 선택적 비드 비팅 단계를 사용할 수 있습니다. • BAL 또는 가래 샘플 전처리 시 1-Thioglycerol을 반드시 첨가하십시오. 1-Thioglycerol이 누락되면 수율에 부정적인 영향을 끼칠 수 있습니다. • 권장량보다 많은 샘플을 첨가하면 핵산 복구가 감소할 수 있습니다. 플러저가 카트리지에 추가되었는지 확인하십시오. 정제 후 보관 문제. • Maxwell® Instrument를 실행한 후 용출액을 제거하고, 권장 온도에 즉시 보관합니다. • 후속 분석 전, 용출액이 여러 번의 동결-용해 주기를 반복하지 않도록 하십시오. 100bp 미만의 핵산 내부 대조물질은 시스템을 사용하여 효율적으로 정제되지 않을 수 있습니다. 사용자는 내부 대조물질의 성능을 설정할 책임이 있습니다.

13. 문제 해결(계속)

증상	원인과 설명
좋지 않은 증폭 상태	상자성 입자의 이동 시 증폭 반응에 간섭이 발생할 수 있습니다. 용출 튜브에 있는 입자를 원심 분리 또는 자성 분리하여 제거합니다. 잘못된 용출 버퍼가 첨가되었습니다. Maxwell® CSC Pathogen Total Nucleic Acid Kit와 함께 제공된 용출 버퍼를 사용합니다.
교차 오염	샘플 대 샘플의 오염을 방지하기 위해 각 샘플에 대해 새로운 피펫 팁을 사용합니다. 카트리지에 용해물을 첨가할 때 튀지 않도록 유의합니다. 인접한 카트리지의 오염을 최소화하기 위해 샘플 추가 시 데크 트레이에서 카트리지를 제거할 수 있습니다.
플런저를 픽업할 수 없는 장비	Maxwell® CSC 인증 화학 키트를 사용하고 있는지 확인합니다. Maxwell® CSC 시약 키트용 플런저는 이 키트용으로 지원되는 Maxwell® Instrument에 한정됩니다.

사용자나 환자의 사망 또는 심각한 부상을 초래했거나 초래했을 수도 있는 기기와 관련하여 발생한 모든 심각한 사건은 즉시 제조사에 보고해야 합니다. 유럽 연합에 기반을 둔 사용자는 모든 심각한 사건을 사용자 및/또는 환자가 있는 회원국의 권한 있는 당국에도 보고해야 합니다.

14. 관련 제품

장비 및 부속품

제품	크기	Cat.#
Maxwell® CSC Instrument	각 1개	AS6000
Maxwell® CSC 48 Instrument	각 1개	AS8000
Maxwell® RSC/CSC Plungers, 50팩	각 1개	AS1331
Maxwell® RSC/CSC Deck Tray	각 1개	SP6019
Maxwell® RSC/CSC 48 Front Deck Tray	각 1개	AS8401
Maxwell® RSC/CSC 48 Back Deck Tray	각 1개	AS8402
ClickFit Microtube, 1.5ml	1,000/팩	V4741

Maxwell® CSC Reagent Kits

사용 가능한 Maxwell® CSC Purification Kit의 목록은 www.promega.com에서 확인하십시오.

^(a)U.S. 특허 제7,329,488호 및 한국 특허 제100483684호.

© 2022 Promega Corporation. All Rights Reserved.

Maxwell은 Promega Corporation의 등록 상표입니다.

ThinPrep은 Hologic, Inc의 등록 상표입니다.

제품은 특허 출원 중이거나 특허를 받았을 수 있으며 특정한 제한사항이 있을 수 있습니다. 자세한 정보는 당사의 웹 사이트를 참조하십시오. 모든 가격과 사양은 사전 예고 없이 변경될 수 있습니다.

제품의 청구사항이 변경될 수 있습니다. Promega 제품의 최신 정보는 Promega Technical Services로 문의하시거나 Promega 온라인 카탈로그를 확인하시기 바랍니다.