

# 사용설명서

## QS12K Flex Real-time PCR system

### 제품정보

형명: **QuantStudio 12K Flex Real-time PCR system**

품목명: 유전자증폭장치 [2 등급]

허가번호: 수허 13-1401 호

사용목적: 질병 진단을 위해 특정 유전자(DNA)의 증폭에 사용하는 장치

포장단위: 1 Unit



## 1. 사용 전 준비사항

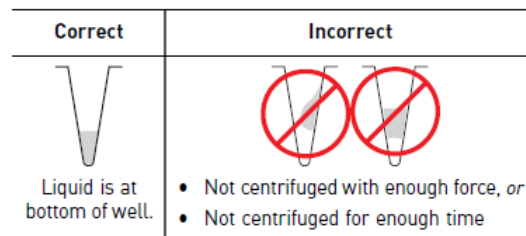
- 1) 장비와 도구들을 준비한다
- 2) 컴퓨터는 사용설명서 상의 최소한의 사양에 맞는 것을 선택한다.

## 2. 사용방법

### (1) 실험 준비

#### 가. 플레이트(Plate) 준비

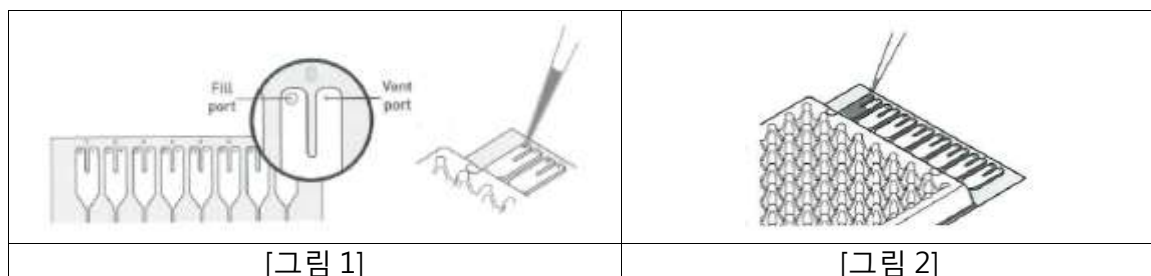
- ① 시약(reagent) 이동 중 손실을 막기 위해 여분의 volume 을 포함하고, standard 와 sample 을 희석하기 위해서는 TE buffer 또는 물을 사용한다.
- ② 제조원의 지시서에 따라 시약(reagent)를 준비한다.
- ③ reaction 을 준비하기 위해
  - 병을 빙빙 돌려 master mix 가 완전히 섞이도록 한다.
  - vortexing 하여 assay mix 를 재부유(resuspend) 한 다음, 간단히 원심분리 한다.
  - 냉동된 sample 을 해동하여 assay mix 에 넣은 다음 재부유 하고 간단히 원심분리 한다.
- ④ 액체(liquid)가 plate 의 각 well 바닥에 있는지 확인하고 그렇지 않다면, 오랜 시간동안 최적의 rpm 으로 다시 원심분리 한다.



- ⑤ reaction mixture 가 담긴 플레이트를 adhesive film 으로 봉인한다.
- ⑥ 장비에 넣어 작동하기 전까지 준비된 플레이트는 4°C의 어두운곳에 보관한다.

#### 나. 어레이카드(Array card) 준비

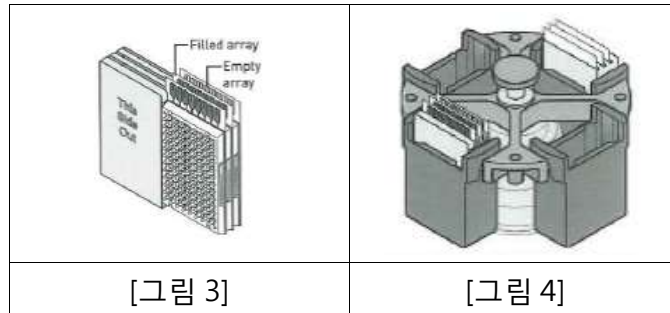
- ① array card 의 포장을 제거하고 깨끗한 곳에 둔다.
- ② 100 $\mu$ L 의 reaction mixture 를 파이펫(pipette)에 담고, 45 도 기울여 액체가 빠져나오지 않도록 잡은 다음 파이펫의 tip 을 어레이카드(array card)의 fill port 에 둔다. ([그림 1] 참고)
- ③ 파이펫에 든 액체(reaction mixture)를 vent port 쪽까지 채운다. ([그림 2] 참고)



④ 'array-card carrier clip'에 완성된 어레이카드(array card)를 넣고(빈 slot 에는 빈 어레이 카드를 둔다)

이를 centrifuge bucket 에 넣는다. (그림 3) 참고)

(\*중요 : 원심분리기의 4 개의 bucket 중 최소 2 개의 마주보는 bucket 에는 원심분리기의 균형(balance)을 위해 어레이카드를 포함하는 carrier clip 이 포함되어야 한다.) ([그림 4] 참고)

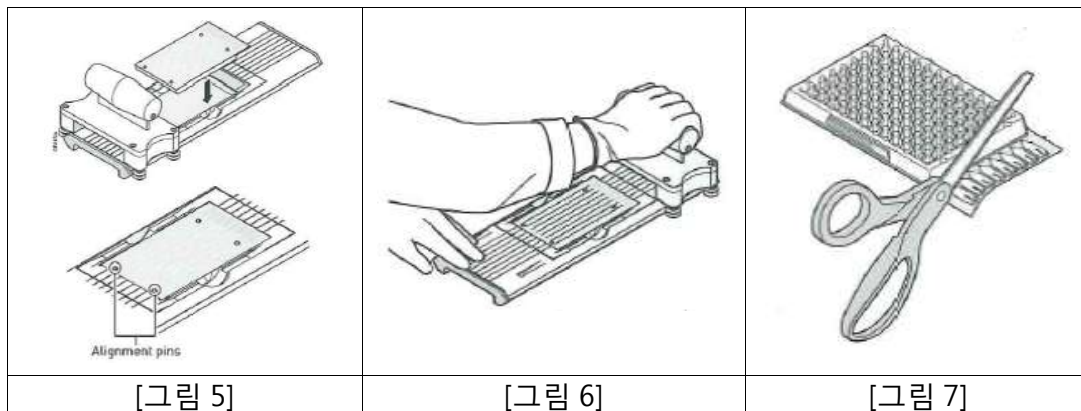


⑤ 원심분리기의 커버를 덮고 1,200 rpm 으로 1 분간 회전시킨다. 그리고 원심분리기를 멈춘 다음 한번 더 1,200 rpm 으로 1 분간 회전시킨다. (한번에 2 분 하지 않고 1 분씩 나누어서 돌리는 이유는 어레이카드에 좀 더 잘 채워지게 하기 위함이다.)

⑥ 원심분리가 끝나면 reservoir 에 있던 것이 동일한 양으로 감소되어 well 에 잘 들어갔는지, 버블이 있진 않은지 확인한다.

⑦ 어레이 카드를 봉인한다.

- Staker/Sealer 와 carriage(roller assembly)를 준비하고 잘 채워진 어레이 카드를 staker/sealer 에 고정한다(고정시, fill reservoir 가 carriage 반대편에 오도록 위치시킨다.) ([그림 5] 참고)
- 두 alignment pin 으로 어레이 카드를 고정하고, carriage 를 천천히 위쪽으로 밀어 어레이카드를 봉인한다. ([그림 6] 참고)
- 봉인이 완료되면 fill reservoir 부분을 가위로 깔끔하게 자른다. ([그림 7] 참고)



## 다. 오픈어레이 플레이트(OpenArray Plate) 준비

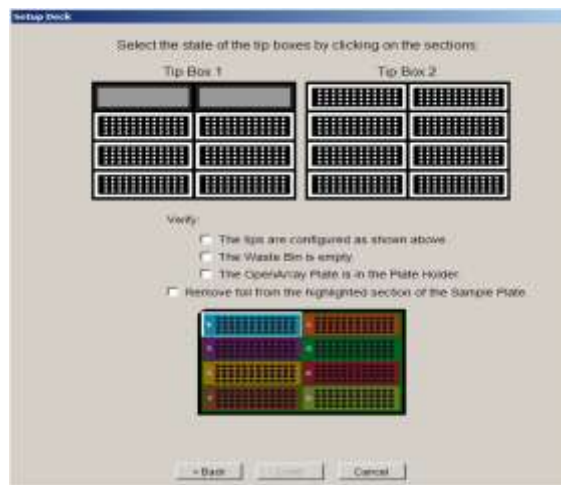
① 냉동된 OpenArray plat 를 꺼내서 포장을 뜯지 않은 상태로 실온에 약 15 분동안 둔다.

(포장상태로 실온에서 최고 24 시간까지 보관가능하다.)

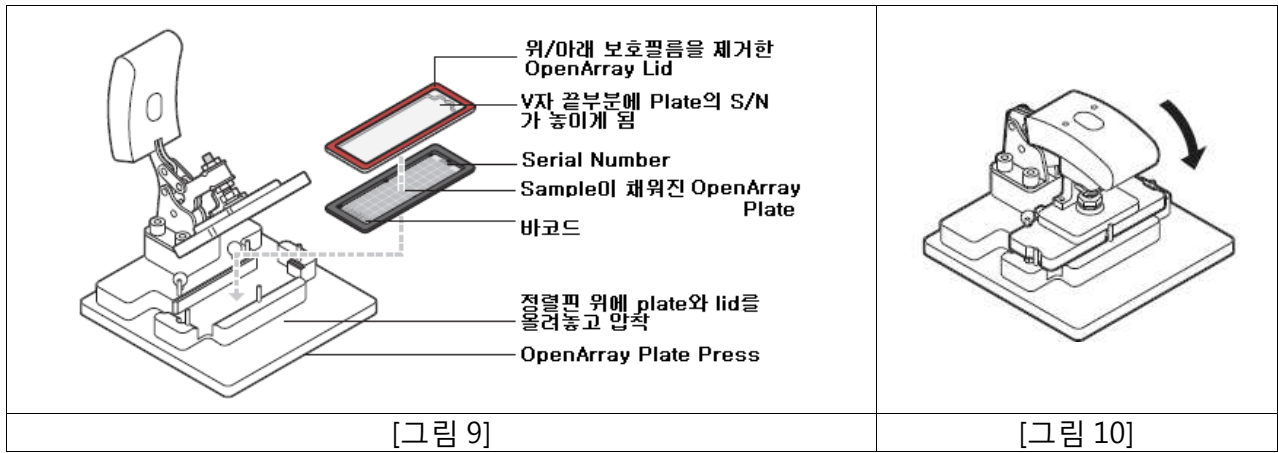
- ② 384-well sample plate 에 reaction mixture 를 5.0ul 씩 파이펫하여 분주하고, foil 을 씌워서 1500rpm 으로 1 분간 원심분리 후 차갑게 보관한다.
- ③ OpenArray Accufill 소프트웨어를 켜고, OpenArray Accufill 장비를 열어 각각의 deck 에 tip, waste bin, 384-well sample plate 를 위치시키고, 포장을 벗긴 OpenArray plate 도 plate deck 에 위치시킨다. ([그림 8] 참고)



- ④ Accufill software 를 실행시키고, 꽂혀있는 tip 상황, waste bin 이 비워졌는지, OpenArray plate 및 384- well sample plate 내 샘플 로딩위치를 소프트웨어 내에 입력한다.



- ⑤ forcep 을 이용하여 384-well sample plate 의 reaction mixture 가 담긴 부분의 foil 을 벗겨낸 다음, 'Remove foil from the hightlighted section of the Sample Plate'을 클릭한다.
- ⑥ 장비 문을 닫은 다음 'Load'를 클릭한다.
- ⑦ Accufill system 이 자동으로 로딩을 완료한 후, 샘플 로딩 완료된 OpenArray Plate 를 90 초내에 sealing 한다.
  - OpenArray case lid 의 위/아래 보호필름을 제거하여 준비한다.
  - OpenArray Plate Press 의 정렬핀에 맞춰 OpenArray plate 를 올려놓고, 보호필름을 벗긴 OpenArray case lid 를 plate 위에 올려놓는다. ([그림 9] 참고)
  - OpenArray Plate Press 를 이용하여 약 10 초간 plate 와 lid 를 압착시킨다. ([그림 10] 참고)



[그림 9]

[그림 10]

- OpenArray plate 와 OpenArray lid 가 함께 부착된 형태인 OpenArray plate 에 Immersion Fluid 를천천히 채운 후, OpenArray plug 로 막은 후 가볍게 비틀어서 손잡이를 제거한다.



[그림 11]

## (2) 실험 및 분석


### A-1. 연결된 컴퓨터의 QuantStudio 12K Flex Software 를 이용하여 실험하는 방법

; 플레이트(plate), 어레이카드(Arraycard)일 경우

1) 컴퓨터 화면의 QuantStudio 12K Flex Software 아이콘  을 더블클릭한다.

2) Home tab  에서 **Instrument Console** 을 선택한 후, 실험하려는 장비를 클릭한다.



3) Instrument Console 스크린에서 **Open Door**  버튼을 누르거나 또는 장비의 터치스크린에서 버튼을 눌러서 장비의 사이드도어를 연다.

4) 준비된 plate 또는 array card 를 어댑터에 올려놓는다.

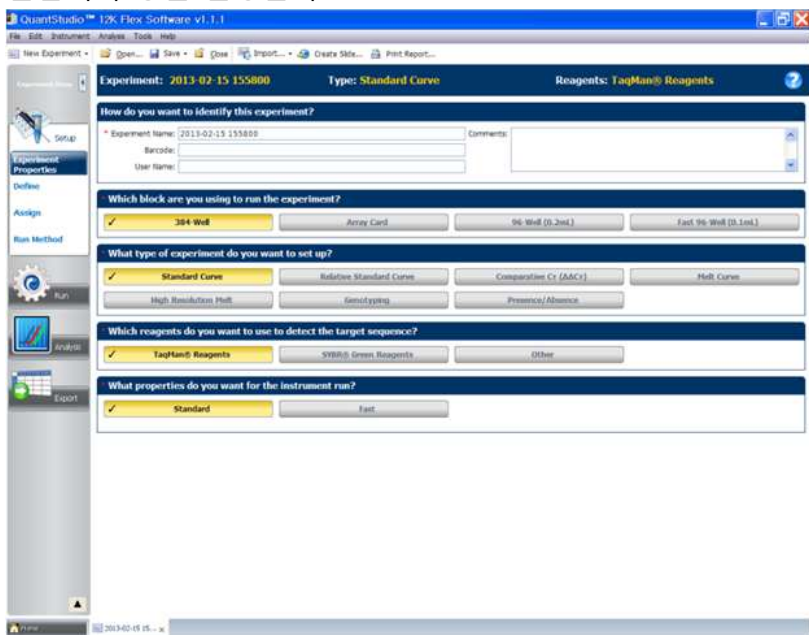
5) Instrument Console 스크린에서 **Close Door**  버튼을 누르거나 또는 장비의 터치스크린에서 버튼을 눌러서 장비의 사이드도어를 닫는다.

6) Home tab  에서 **Create From Template** 를 선택한다.

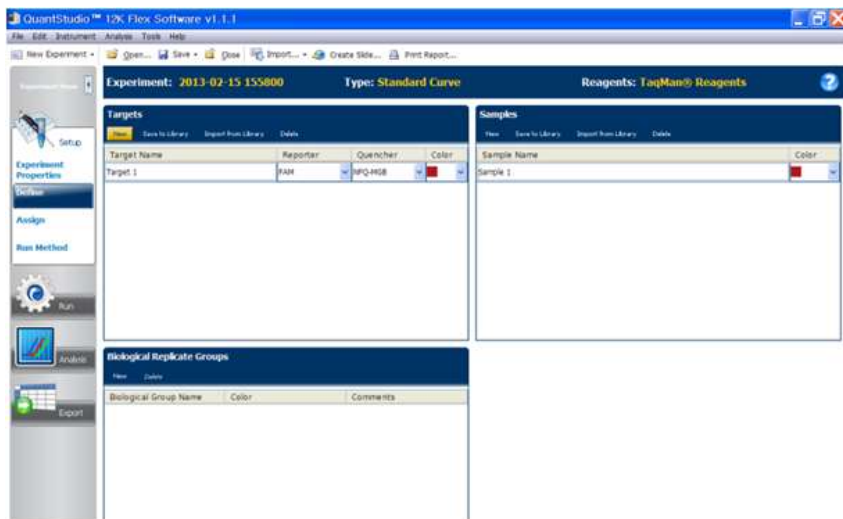
7) 사용하려는 template 파일(\*.edt)을 선택하여 **Open** 을 누른다.

8) 필요에 따라서 실험목적에 맞게 설정을 변경한다.

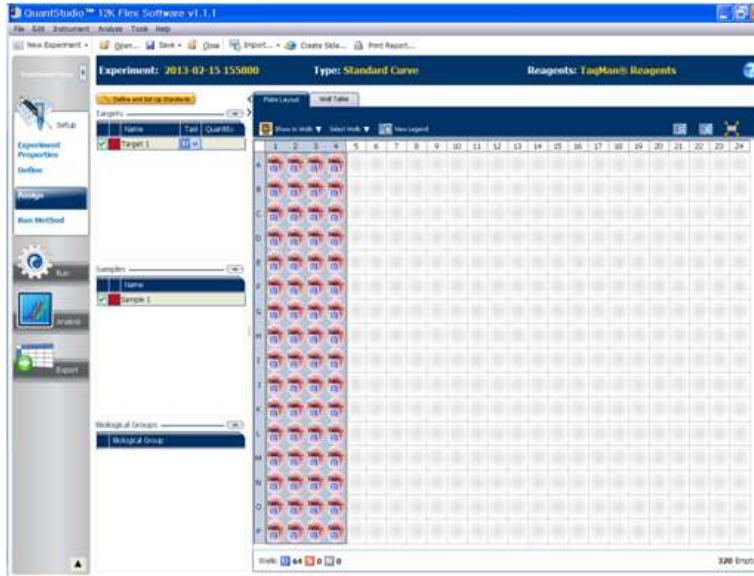
- **Experiment Setup** 을 누른 후 **Experiment Properties** 스크린에서, 플레이트 혹은어레이카드의 바코드를 스캔하고, 실험 종류와 실험시약 등을 설정한다.



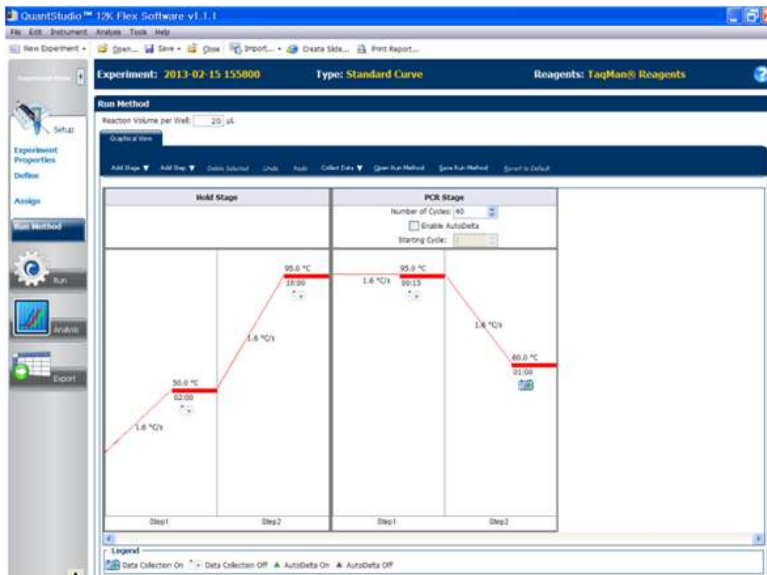
- **Define** 을 눌러 **Define** 스크린에서 타겟과 샘플을 설정한다.



- **Assign** 을 눌러 **Assign** 스크린에서 컬럼을 지정하고, 해당 well 마다 타겟과 샘플을 지정한다.




- **Run Method** 를 눌러 **Run Method** 스크린에서 온도프로파일을 수정한다.




9) **File** 을 누르고 **Save As...**를 선택하여, 실험파일(\*.eds)을 저장한다.



10) **Start Run** 을 클릭한다.

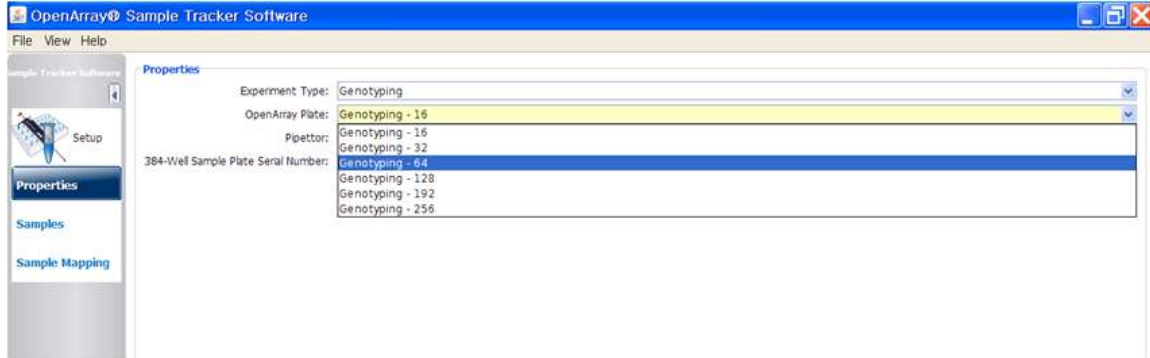
## A-2. 연결된 컴퓨터의 QuantStudio 12K Flex Software 를 이용하여 실험하는 방법 ; 오픈어레이플레이트(OpenArray plate)일 경우

1) 컴퓨터 화면의 QuantStudio 12K Flex Software 아이콘  을 더블클릭한다.

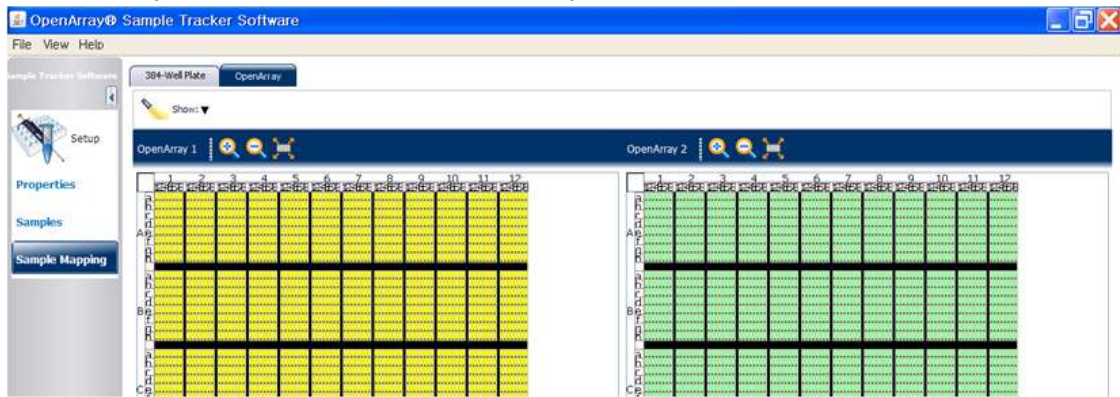
2) Home tab  에서 **Instrument Console** 을 선택한 후, 실험하려는 장비를 클릭한다.

3) Instrument Console 스크린에서 **Open Door** 버튼을 누르거나또는 장비의 터치스크린에서  버튼을 눌러서 장비의 사이드도어를 연다.

- 4) 준비된 OpenArray plate 를 어댑터에 올려놓는다.
- 5) Instrument Console 스크린에서 **Close Door** 버튼을 누르거나 또는 장비의 터치스크린에서  버튼을 눌러서 장비의 사이드도어를 닫는다.
- 6) Home tab  에서 **OpenArray Sample Tracker Software** 를 선택한다.
- 7) Sample tracker 스크린에서 왼쪽 **Properties** 탭을 눌러 주문한 OpenArray plate 의 형식을선택한다.



- 8) 왼쪽 **Sample Mapping** 탭을 눌러 검체가 담겨있는 384 well-Plate 에서 로딩된 샘플들을 지정하여 입력하고, OpenArray 탭 내에서 검체들의 OpenArray plate 에 분주된 위치를 지정한다.

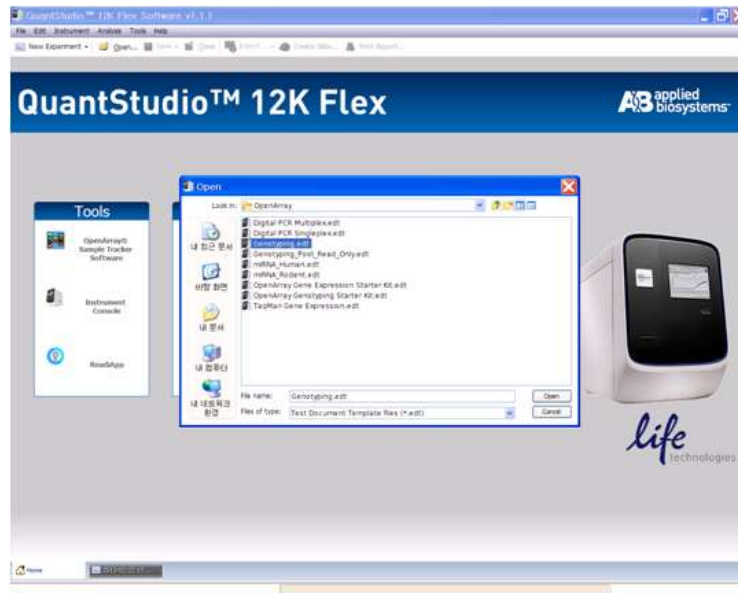


- 9) Menu tool bar 에서 Export 를 선택하고 drop down menu 중 Export\*.csv 를 선택하여 sample 종류수와 OpenArray plate 수를 선택한 후 저장한다.
- 10) Main 화면의 Experiment Menu 에서 Create from Template 를 선택한다.





11) 팝업창이 열리면 OpenArray 파일폴더 내에서 실험하고자 하는 실험 template 파일을 선택하여 연다.

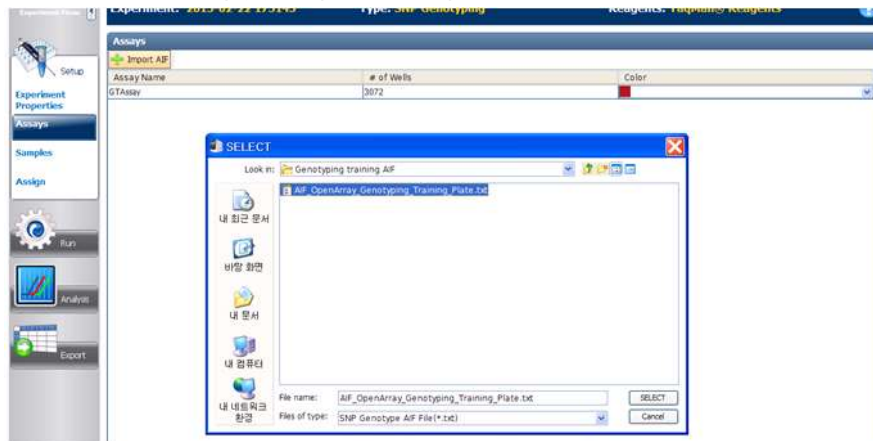


12) 필요에 따라서 실험목적에 맞게 설정을 변경한다.

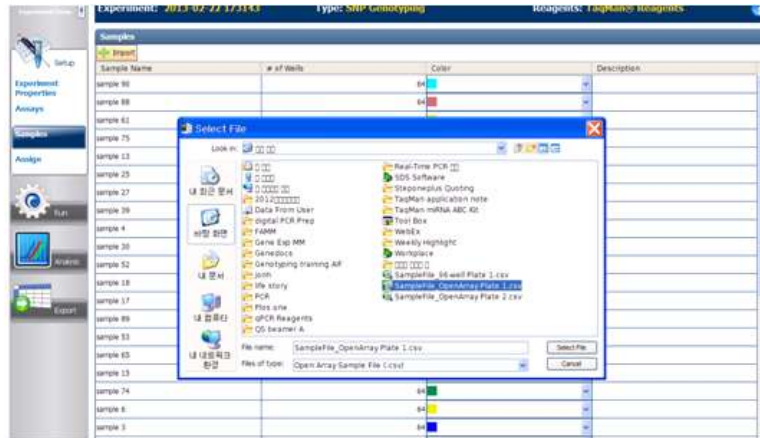
- **Experiment Setup** 을 누른 후 **Experiment Properties** 스크린에서, 실험 종류와 실험시약등을 설정한다.



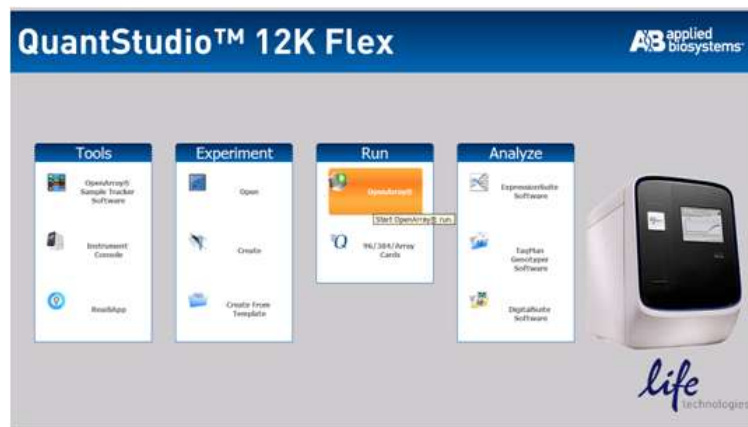
- **Assays** 를 눌러 **Assays** 스크린에서 Import AIF 를 눌러 Import 메뉴에서 \*.spf 또는 \*.tpf 파일을 OpenArray plate 의 Serial number 에 맞도록 설정한다.



- **Samples** 를 눌러 **Samples** 스크린에서 **Import** 를 누르고, **Sample Tracker** 에서 만든 **sample** 파일(.csv)을 선택하여 **import** 를 눌러 불러온 다음, 저장한다.

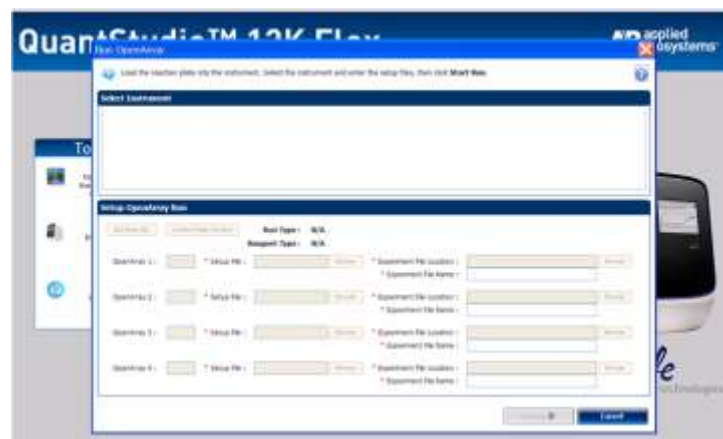


13) **Main** 화면에서 **Run** 메뉴의 **OpenArray** 을 선택한다.



14) **Run** **OpenArray** 창이 뜨면 설정을 조정한 후, **Start Run** 을 클릭한다.

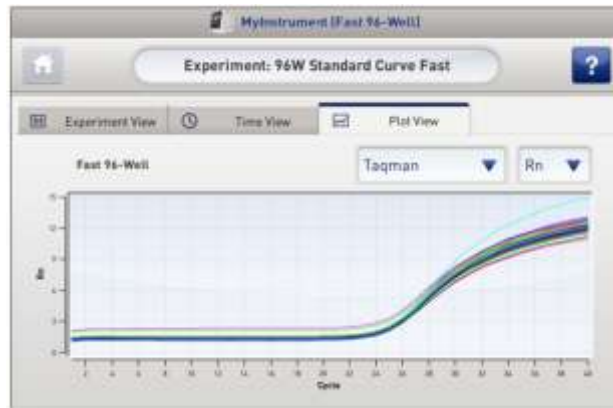
- **Get Plate IDs** 를 눌러 **OpenArray** plate serial 번호가 자동으로 인식되게 한다.
- **Setup File** 옆의 **Browse** 를 선택하여 만들어놓은 **Experiment File** 을 선택하고, 화면하단 **Start Run** 버튼을 클릭한다.







## B. 결과 확인



- 1) 실험이 시작되면, 장비 스크린을 통해 남은 실험 남은 시간 및 중간 plot 등을 확인할 수 있다.
- 2) 실험이 끝나면, 결과값을 볼 수 있으며 instrument 내에 결과가 저장된다.



- 3) Instrument Console 스크린에서 **Open Door**  버튼을 누르거나 또는 장비의 터치스크린에서 버튼을 눌러서 장비의 사이드도어를 열고, 실험이 끝난 plate, array card 또는 OpenArray Plate 를 꺼낸다.
- 4) 실험결과는 장비와 연결된 컴퓨터의 소프트웨어를 통해 다운로드 가능하며, 컴퓨터와의 연결 없이도 USB 를 통해 결과값을 옮길 수 있다.
  - 가. USB 를 USB port 에 꽂고, 스크린의 메인메뉴에서 **Browse Experiments** 를 누른다.
  - 나. Browse Experiments 화면에서  를 누르고 **USB** 를 누른 후, 저장하려는 실험을 선택하고  **Save** 를 누른다.
  - 다. USB 드라이브로 파일이 이동한 것을 확인한 후, **Save** 를 누른다.
  - 라.  을 누르고 메인메뉴로 이동한 다음, USB 를 뽑는다.

## 3. 사용 후 보관 및 관리방법

- 1) 보관 및 작동환경조건
  - 가. 온도 : 15~30°C(59~86°F) 나. 습도 : 20~80%(non-condensing)
- 2) 블럭(block) 부분에 이물질이 묻어 있으면 정확한 실험데이터를 얻을 수 없으며 고장 등의 원인이 되므로 항상 청결을 유지한다.
- 3) 샘플블럭(sample block) 세척방법
  - 가) 오염물질 제거를 위해 필요한 것(Bleach solution(10%), Deionized water, 피펫 등)을 준비한다.

- 나) bleach solution 과 deionized water 을 이용해 샘플블럭의 침식을 막기위한 과정을 거친 후 background calibration 을 이용하여 샘플블럭의 오염된 부분을 확인한다.
- 다) 장비를 끄고 플러그를 뽑아 15 분동안 열을 식힌 다음 장비의 서랍(drawer)을 연다.
- 라) 각 오염된 웰(well)에 미량의 물을 여러차례 피펫팅(pipetting)하여 웰을 세척하고, 면봉으로 웰의 내부를 닦은 후 웰 안의 여분의 이온수를 lint-free 천으로 흡수시켜 닦아낸다.
- 마) 장비의 서랍을 닫고 플러그를 꽂아 전원을 on 한다. 이후 background calibration 을 하여 오염된 well 이 남아있는지 확인하고, 있으면 위의 단계를 반복한다.

#### 4. 사용시 주의사항

1. 장비는 자사의 직원 또는 vendor 에 의해서만 이동되고 안착되어야 하며, 한번 안착된 장비는 기술자들의 도움 없이 옮겨서는 안 되며, 2 명 이상의 사람이 함께 들고 이동해야 한다.
2. 시약과 잔류물병은 깨지거나 새어 위험을 초래할 수 있으므로 절대 모으거나 저장하지 않아야 하며, 각각의 잔류물 병은 저밀도 폴리에틸렌 안전용기에 단단히 잠궈 두어야 한다.
3. 시약과 잔류물병을 다룰 때에는 보호장비(장갑, 옷, 안경 등)를 착용한다.
4. 장비 작동 중에는 커버와 샘플 블럭이 100°C를 초과할 수 있으니 물리적 위험을 조심해야 한다.
5. 지시서에 서술된 기호(symbol)들을 올바르게 숙지하고 장비를 사용한다.
6. reaction plate 개봉 시 손상이 있거나 오염되어 있을 경우 사용하지 않는다.
7. 각 실험유형에 맞는 시약을 사용한다.
8. 전기적 위험요소에 대응하여 장비를 보호하기 위해 fuse 는 장비에 맞는 타입을 선택하고, 끊어졌을 경우 새것으로 바로 교체한다.
9. 제품에 알맞은 전원을 공급하여 사용해야 한다.
10. door 를 열 때 방해할 수 있는 물건을 제품 전면부에 놓아두지 않는다.
11. 제품을 임의로 분해하거나 개조하면 화재, 감전, 고장의 원인이 되며 A/S 를 받으실 수 없다.
12. 제품을 유전자 증폭 또는 실시간 정량분석 이외의 다른 용도로 사용하지 않는다.
13. 구성품에 대한 사용 시 주의사항.
  - 1) 작동 후 샘플블럭 및 heat cover 등은 아주 뜨거우니, 실내온도로 식은 후 처리한다.
  - 2) array card 를 봉인 후, fill reservoir 을 잘라낼 때에는 샘플블럭에 올바르게 장착되는 것을 막아 증폭에 영향을 미칠 수 있으니 가장자리부분이 매끄럽게 잘라야 한다.
  - 3) 플레이트 또는 어레이카드에 있는 형광염료(fluorescent dye)는 빛에 민감하므로 빛에 노출되지 않도록 한다.
  - 4) 플레이트(또는 어레이카드) 및 장비를 사용할 때는 powder-free 장갑을 착용하고 사용한다.
  - 5) 포장 또는 제품이 파손된 경우 사용하지 않는다.
  - 6) OpenArray plate 에 Immersion Fluid 를 천천히 주입하여야 한다. 너무 빠르게 주입할시, through-hole 내에 담겨있는 샘플이 씻겨져 나올 수 있다.
  - 7) OpenArray plate 의 sealing 이 완료 된 후, 가능한 1 시간 이내에 실험을 실시하는 것이 좋다. 또한 마른 수건과 에탄올로 OpenArray plate 케이스를 닦은 후, 장비에 로딩한다.

※ 본 제품은 의료기기입니다.

