

Fiche de protocole du QIASymphony® RGQ

Paramètres pour l'exécution du kit *artus*® CT/NG QS-RGQ (logiciel Rotor-Gene® Q version 2.1)



Vérifier la disponibilité de nouvelles révisions des notices électroniques à l'adresse www.qiagen.com/products/artusctngqsrgqkitce.aspx avant de procéder à la réalisation des tests. L'état de la révision actuelle est indiqué par la date de parution (format : mois/année).

Informations générales



artus CT/NG QS-RGQ Kit

Version 1, **REF** 4569365

Remarques importantes avant de commencer

- Prendre le temps de se familiariser avec le Rotor-Gene Q avant d'exécuter le protocole. Consulter le manuel d'utilisation de l'appareil.
- Voir également le manuel du kit *artus* CT/NG QS-RGQ (*artus* CT/NG QS-RGQ Kit Handbook) et la fiche d'application appropriée à l'adresse www.qiagen.com/products/artusctngqsrgqkitce.aspx.
- S'assurer que les témoins positifs/négatifs, ainsi qu'au moins un témoin négatif (NTC, fourni dans le kit et transféré par le module AS par pipetage) sont inclus à chaque cycle de PCR. Le kit *artus* CT/NG QS-RGQ étant qualitatif, aucun étalon de quantification n'est fourni.

Procédure

1. **Placer les tubes de PCR dans le rotor à 72 puits du Rotor-Gene Q.**
2. **Placer les tubes de PCR vides avec leurs capuchons dans les positions vides du rotor.**
Ceci garantira une distribution optimale de la température dans le Rotor-Gene Q.
3. **Verrouiller le rotor à l'aide de l'anneau de blocage.**
4. **Transférer le fichier du cycleur du QIASymphony AS vers l'ordinateur du Rotor-Gene Q.**

Juin 2013



Sample & Assay Technologies

5. Ouvrir la boîte de dialogue « New Run Wizard » (Assistant de lancement d'un nouveau cycle) (figure 1). Cocher la case « Locking Ring Attached » (Anneau de blocage posé) et cliquer sur « Next » (Suivant).

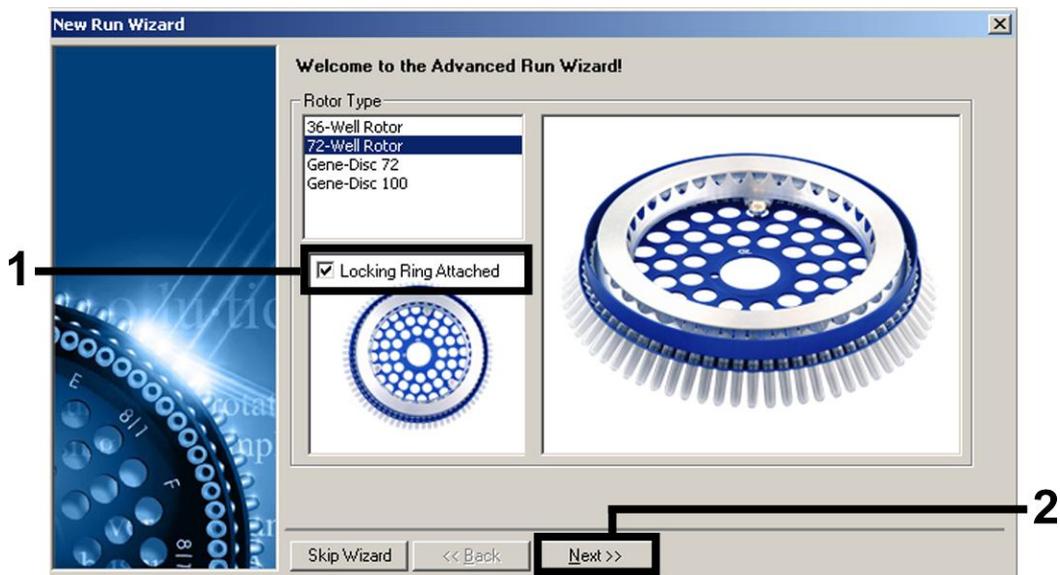


Figure 1. Boîte de dialogue « New Run Wizard ».

6. Sélectionner 25 pour le volume de réaction de la PCR et cliquer sur « Next » (figure 2).

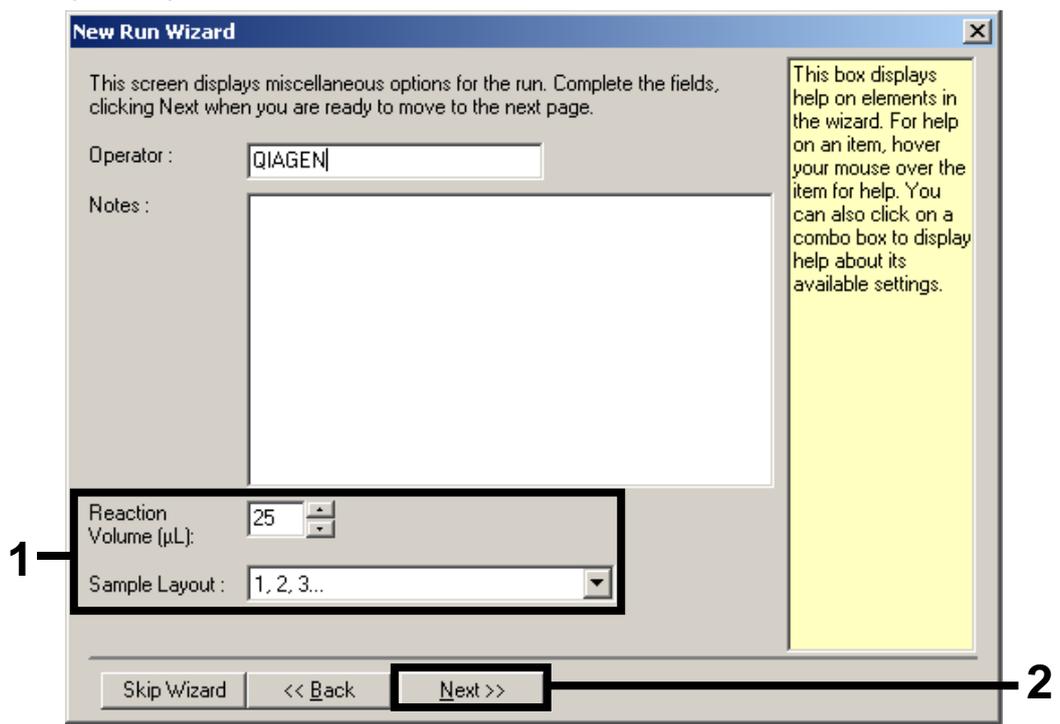


Figure 2. Définition des paramètres généraux d'analyse.

7. Cliquer sur le bouton « Edit Profile » (Modifier le profil) dans la boîte de dialogue « New Run Wizard » (Figure 3). Programmer le profil de température comme indiqué

dans le tableau 1, en utilisant les captures d'écran présentées sur les figures 3 à 5 comme guide.

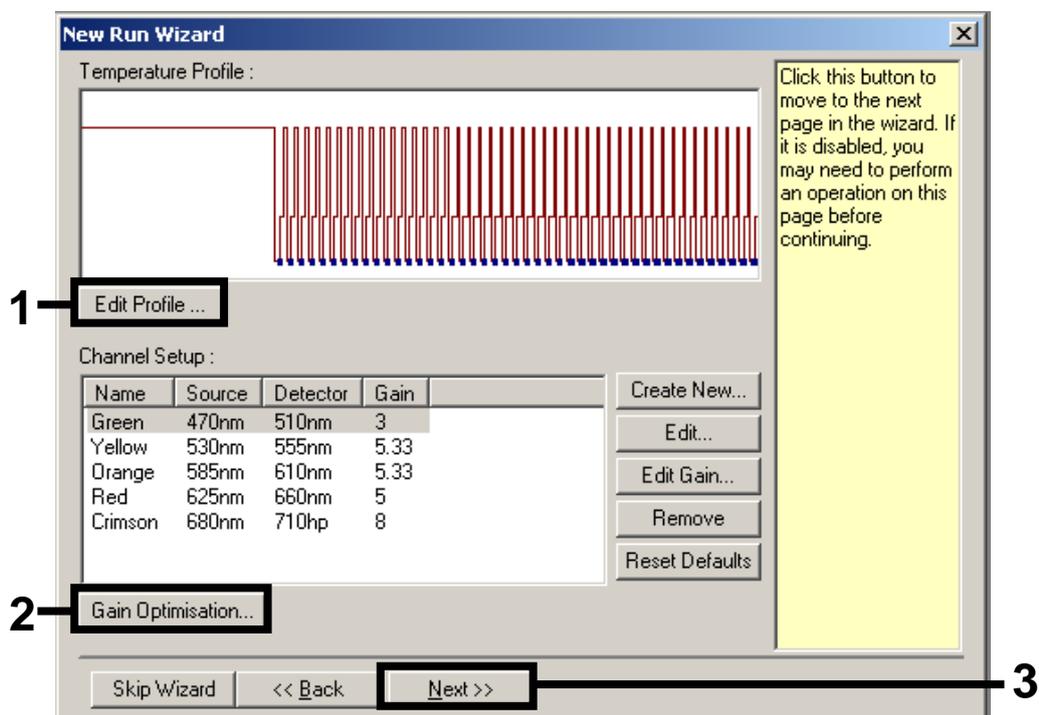


Figure 3. Modification du profil.

Tableau 1. Profils de température pour le kit *artus* CT/NG QS-RGQ

Plateau	Température : 95 deg. Durée : 15 min
Plateau 2	Étape non requise
Cycles	45 cycles 95 deg. pendant 11 s 60 deg. pendant 20 s 72 deg. pendant 20 s

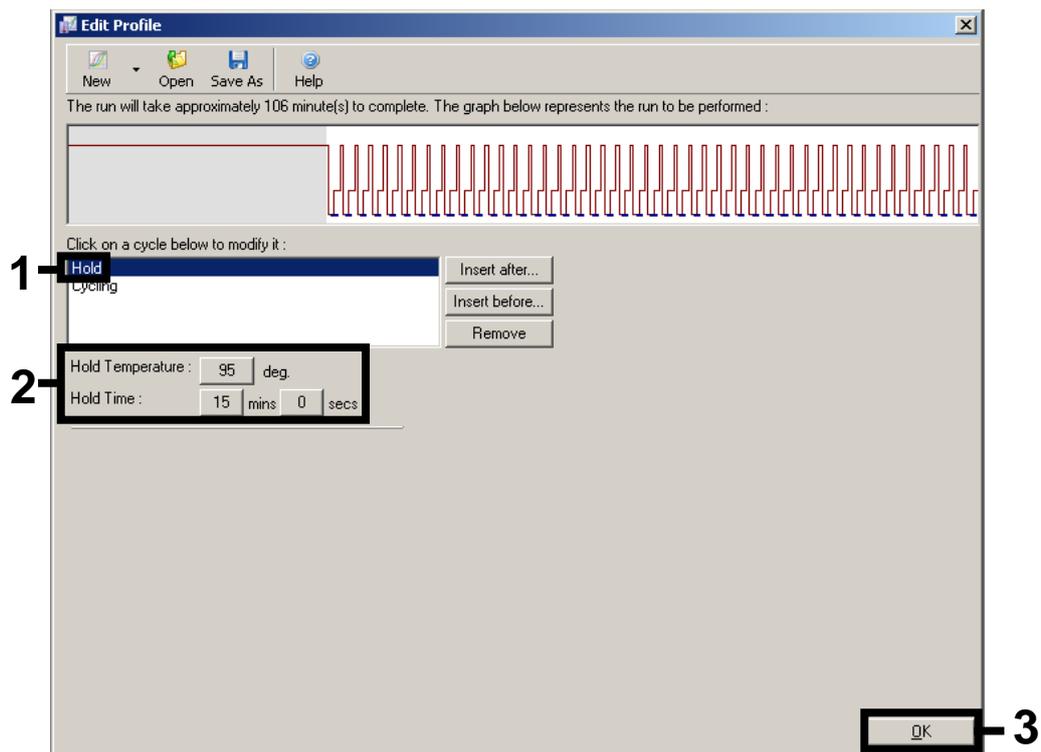


Figure 4. Activation initiale de l'enzyme à démarrage à chaud (hot-start).

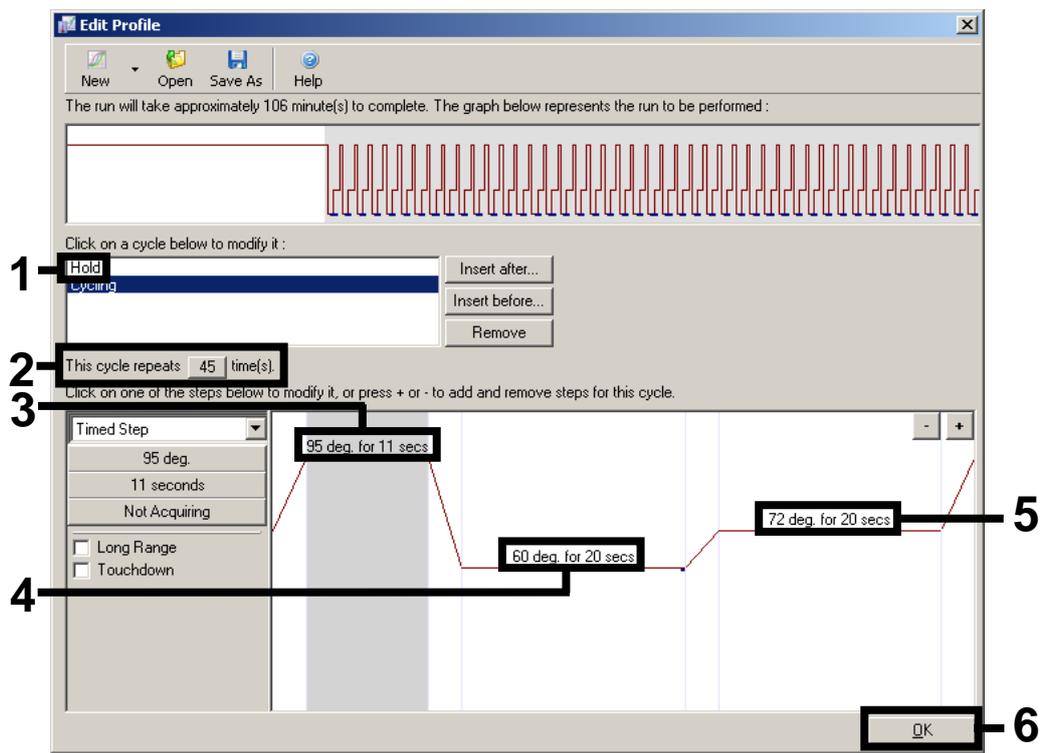


Figure 5. Amplification de l'ADN.

8. La plage de détection des canaux de fluorescence doit être déterminée selon les intensités de fluorescence des tubes de PCR. Dans la boîte de dialogue « New Run Wizard », cliquer sur « Gain Optimisation » (Optimisation du gain) (cf. figure 3, page 3) pour ouvrir la boîte de dialogue « Auto-Gain Optimisation Setup » (Configuration de l'optimisation du gain automatique). Régler la température de calibration à 60 pour qu'elle corresponde à la température d'hybridation du programme d'amplification (Figure 6).

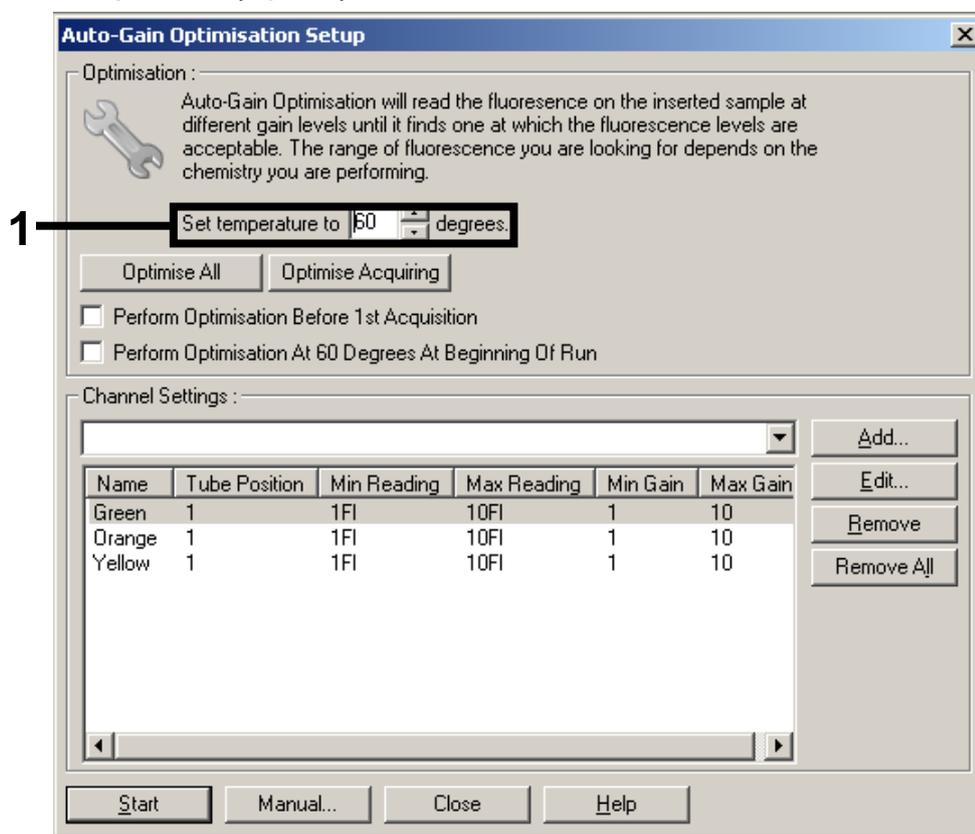


Figure 6. Ajustement de la sensibilité du canal de fluorescence.

9. Ajustement de l'optimisation du gain. Choisir une « Plage d'échantillons cibles » de 1 FI à 10 FI et une « Plage de gains acceptable » de 1 à 10 (Figure 7, exemple donné pour le canal vert (Green). Ces ajustements doivent être faits pour chaque canal vert, jaune et orange (Green, Yellow, and Orange).

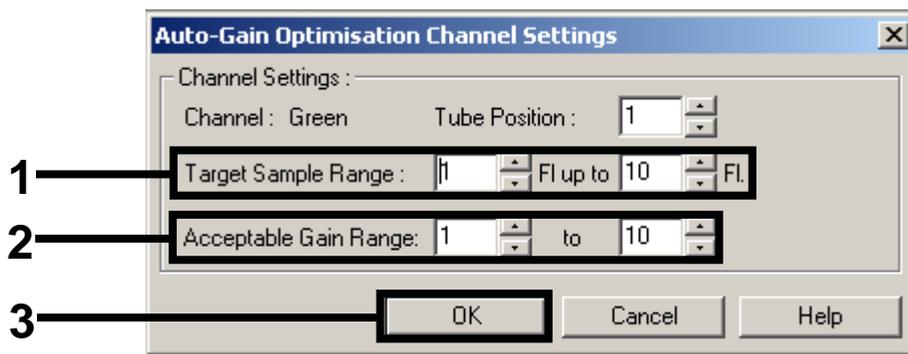


Figure 7. Ajustement de l'optimisation du gain pour le canal vert (Green). Ces ajustements doivent être faits pour chaque canal vert, jaune et orange (Green, Yellow, and Orange).

10. Cliquer sur le bouton « Start » (Démarrer) pour démarrer l'optimisation du gain. Une fois l'optimisation du gain terminée, cliquer sur « Close » (Fermer) pour revenir sur l'assistant de lancement de cycle (Figure 8).

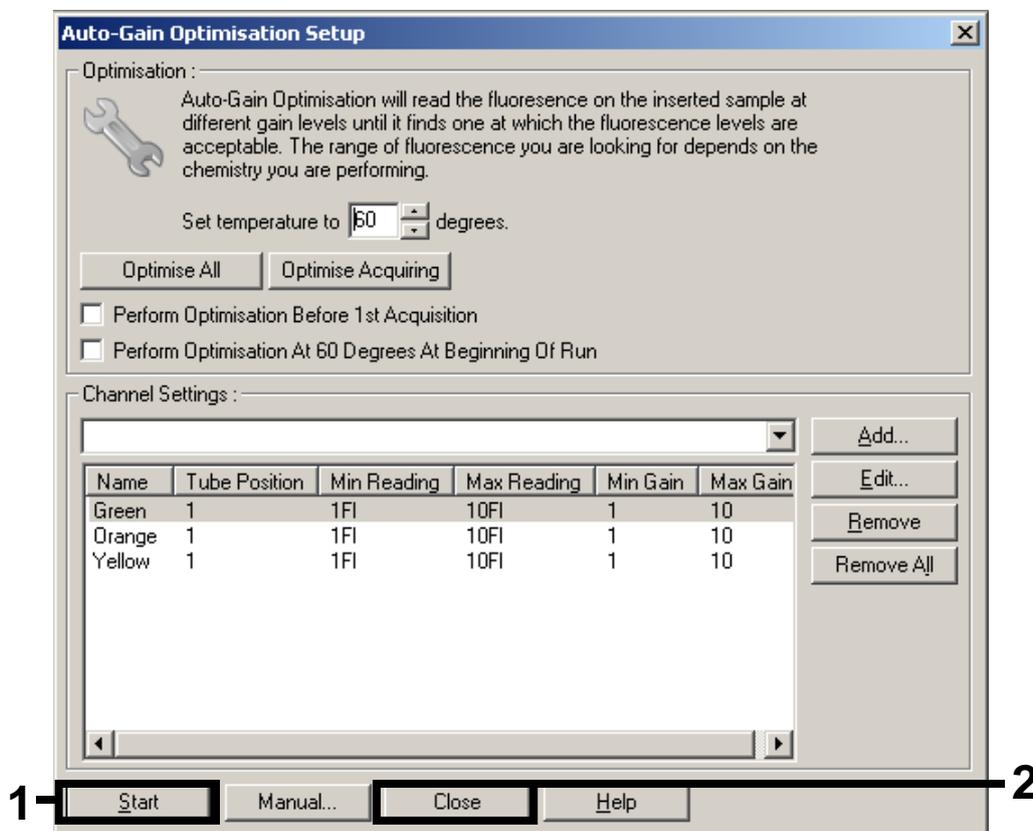


Figure 8. Optimisation du gain.

11. Les valeurs de gain déterminées par la calibration de canal sont automatiquement enregistrées et répertoriées dans la dernière fenêtre de menu de la procédure de programmation (Figure 9). Cliquer sur « Start Run » (Démarrer le cycle).

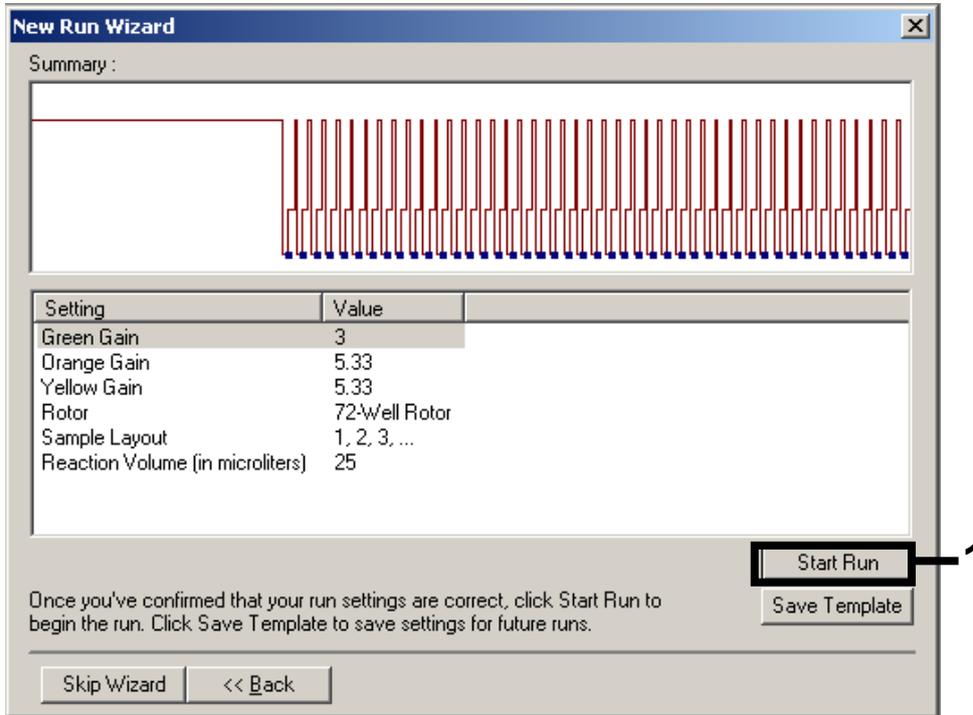


Figure 9. Démarrage du cycle.

12. Après avoir lancé le cycle, importer les informations à partir du fichier du cycleur en cliquant sur le bouton  (« Open » [Ouvrir]) ou modifier les échantillons manuellement.
13. Pour l'interprétation des résultats, voir le manuel d'utilisation de l'appareil et la fiche d'application QIASymphony RGQ appropriée disponible à l'adresse www.qiagen.com/products/artusctnqqsrgqkitce.aspx.

Pour obtenir les dernières informations sur la licence et les clauses de responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN respectif. Les manuels des kits et manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des Services techniques QIAGEN ou du distributeur local.

Marques de commerce : QIAGEN®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (Groupe QIAGEN).

© 2013 QIAGEN, tous droits réservés.

www.qiagen.com	Denmark = 80-885945	Italy = 800-787980	Singapore = 1800-742-4368
Australia = 1-800-243-800	Finland = 0800-914416	Japan = 03-6890-7300	Spain = 91-630-7050
Austria = 0800-281011	France = 01-60-920-930	Korea (South) = 080-000-7145	Sweden = 020-790282
Belgium = 0800-79612	Germany = 02103-29-12000	Luxembourg = 8002 2076	Switzerland = 055-254-22-11
Brazil = 0800-557779	Hong Kong = 800 933 965	Mexico = 01-800-7742-436	Taiwan = 0080-665-1947
Canada = 800-572-9613	India = 1-800-102-4114	The Netherlands = 0800 0229592	UK = 0808-2343665
China = 800-988-0325	Ireland = 1800 555 049	Norway = 800-18859	USA = 800-426-8157

