Folha do Protocolo do QIAsymphony® RGQ

Definições para ensaios no Kit artus[®] CT/NG QS-RGQ (Rotor-Gene[®] Q software 2.1)



Verificar a disponibilidade de novas revisões de rotulagem electrónica em www.qiagen.com/products/artusctngqsrgqkitce.aspx antes da realização do teste. O actual estado de revisão é indicado pela data de emissão (formato: mês/ano).

Informações gerais



artus CT/NG QS-RGQ Kit

Versão 1, **REF** 4569365

Pontos importantes antes de iniciar o procedimento

- Familiarizar-se com o Rotor-Gene Q antes de dar início ao protocolo. Consultar o manual do utilizador do instrumento.
- Consultar também o Manual do kit artus CT/NG QS-RGQ (artus CT/NG QS-RGQ Kit Handbook) e a folha de aplicação relevante em www.qiagen.com/products/artusctngqsrgqkitce.aspx.
- Assegurar-se de que os controlos positivo/negativo e, pelo menos, um controlo negativo (NTC, fornecido no kit e pipetado pelo módulo AS) são incluídos em cada ensaio de PCR. Uma vez que o Kit artus CT/NG QS-RGQ é um ensaio qualitativo, não são fornecidos quaisquer padrões de quantificação.

Procedimento

- Colocar os tubos de PCR no rotor de 72 poços do Rotor-Gene Q.
- Colocar tubos de PCR vazios com tampas em posições vazias do rotor.
 Isto irá garantir a distribuição ideal da temperatura no Rotor-Gene Q.
- 3. Bloquear o rotor com o anel bloqueador.
- Transferir o ficheiro do ciclador do QIAsymphony AS para o computador Rotor-Gene Q.

Junho de 2013

Abrir a caixa de diálogo "New Run Wizard" (Assistente de novo ensaio) (figura 1).
 Assinalar a caixa "Locking Ring Attached" (Anel bloqueador conectado) e clicar em "Next" (Seguinte).

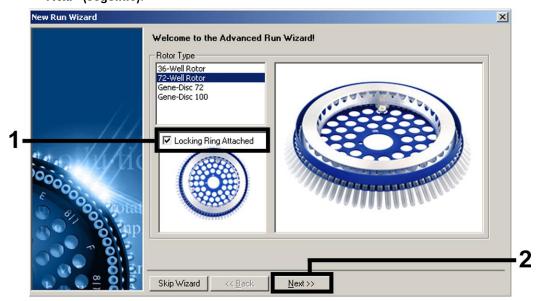


Figura 1. A caixa de diálogo "New Run Wizard".

6. Seleccionar 25 para o volume de reacção de PCR e clicar em "Next" (figura 2).

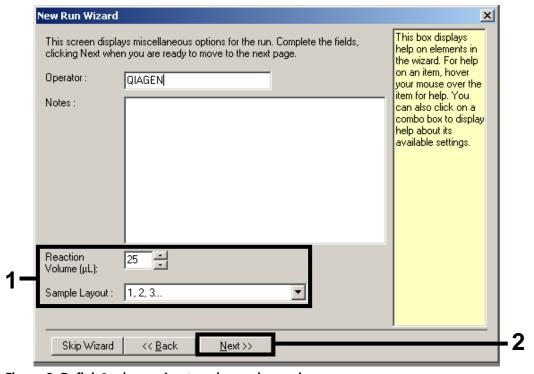


Figura 2. Definição dos parâmetros de ensaio gerais.

7. Clicar no botão "Edit Profile" (Editar perfil) na caixa de diálogo seguinte do "New Run Wizard" (figura 3). Programar o perfil de temperatura conforme se mostra na Tabela 1, utilizando os ecrãs apresentados nas figuras 3–5 como orientação.

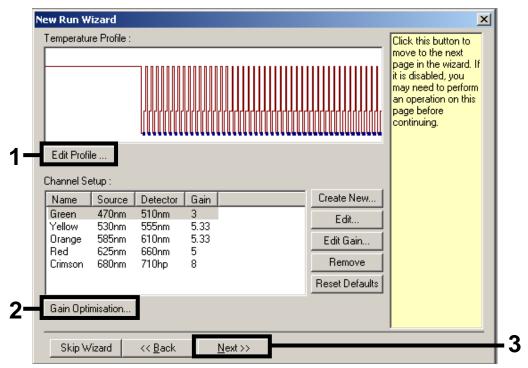


Figura 3. Editar o perfil.

Tabela 1. Perfis de temperatura para o Kit artus CT/NG QS-RGQ

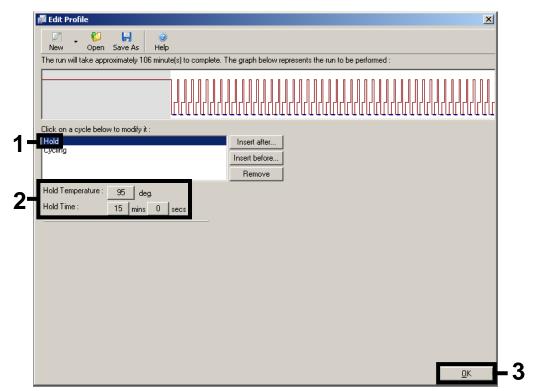


Figura 4. Activação inicial para enzima de começo quente.

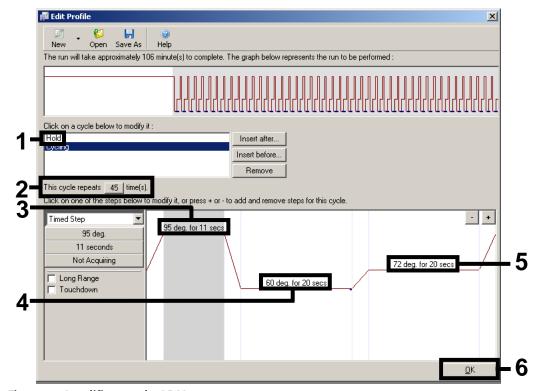


Figura 5. Amplificação do ADN.

8. O intervalo de detecção dos canais de fluorescência tem de ser determinado de acordo com as intensidades de fluorescência nos tubos de PCR. Clicar em "Gain Optimisation" (Optimização de ganho) na caixa de diálogo "New Run Wizard" (ver figura 3, página 3) para abrir a caixa de diálogo "Auto-Gain Optimisation Setup" (Configuração da optimização automática de ganho). Definir a temperatura de calibração para 60 para igualar a temperatura de hibridização do programa de amplificação (figura 6).

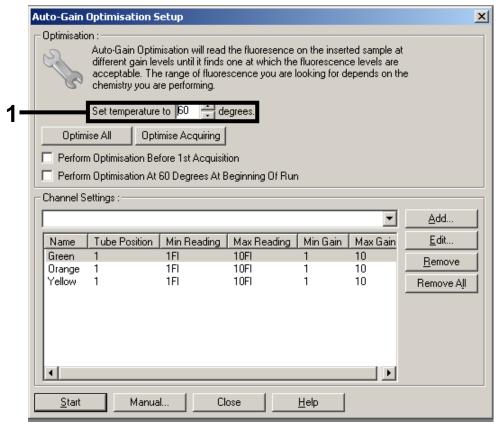


Figura 6. Ajuste da sensibilidade do canal de fluorescência.

9. Ajustar a optimização do ganho. Escolher um "Target Sample Range" (Intervalo de amostras alvo) a partir de 1 Fl até 10 Fl e um "Acceptable Gain Range" (Intervalo de ganho aceitável) a partir de 1 a 10 (figura 7, examplo mostrado para canal Green [Verde]). Estes ajustes devem ser realizados para cada canal (verde, amarelo e laranja).

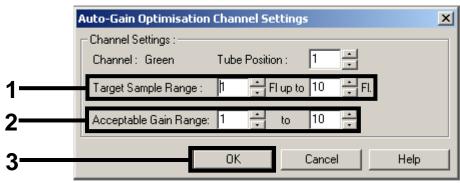


Figura 7. Ajuste da optimização do ganho para o canal Green. Estes ajustes devem ser realizados para cada canal (verde, amarelo e laranja).

 Clicar em "Start" (Iniciar) para iniciar a optimização do ganho. Depois de concluída a optimização do ganho, clicar em "Close" (Fechar) para voltar ao assistente de ensaio (figura 8).

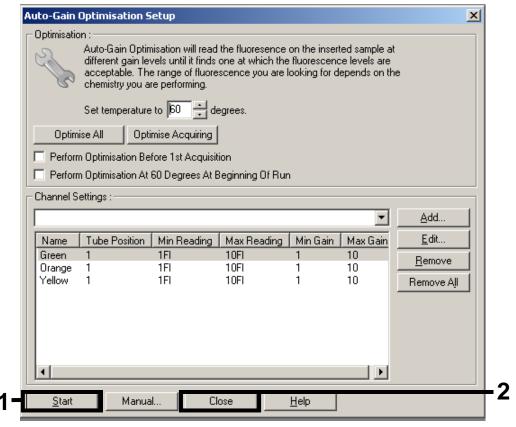


Figura 8. Optimização do ganho.

11. Os valores de ganho determinados pela calibração de canais são guardados automaticamente e são enumerados na última janela do menu do procedimento de programação (figura 9). Clique em "Start Run" (iniciar procedimento de ensaio).

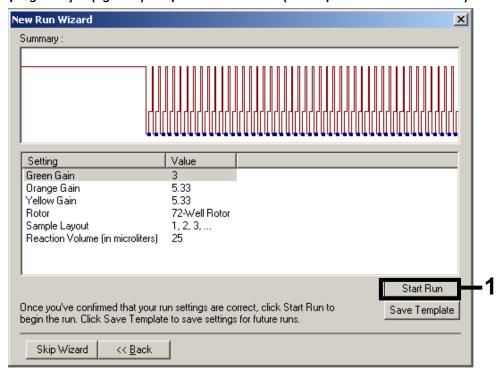


Figura 9. Início do ensaio.

- 12. Depois de iniciar o procedimento de ensaio, importar a informação do ficheiro do ciclador, clicando no botão [10] ("Open") (Abrir) ou editar manualmente as amostras.
- 13. Para interpretação dos resultados, consultar o manual do utilizador do instrumento e QIAsymphony RGQ em aplicação relevante do www.qiagen.com/products/artusctngqsrqqkitce.aspx.

Para obter informações de licenciamento actualizadas e renúncia de responsabilidades específicas do produto, consultar o manual do utilizador ou o manual de instruções do kit QIAGEN respectivo. Os manuais do kit QIAGEN e do utilizador estão disponíveis em www.giagen.com ou podem ser pedidos à Assistência Técnica ou ao distribuidor local da QIAGEN.

Marcas comerciais: QIAGEN®, QIAsymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

© 2013 QIAGEN. Todos os direitos reservados.

Denmark = 80-885945 www.qiagen.com Finland = 0800-914416 Australia = 1-800-243-800 Austria = 0800-281011 France = 01-60-920-930 Belgium = 0800-79612 Germany = 02103-29-12000 Brazil = 0800-557779 Hong Kong = 800 933 965 Canada = 800-572-9613 India = 1-800-102-4114 China = 800-988-0325 Ireland = 1800 555 049

Italy = 800-787980 Japan = 03-6890-7300 Korea (South) = 080-000-7145 Luxembourg = 8002 2076 Mexico = 01-800-7742-436 The Netherlands # 0800 0229592

Norway = 800-18859

Singapore = 1800-742-4368 Spain = 91-630-7050 Sweden = 020-790282 Switzerland = 055-254-22-11 Taiwan = 0080-665-1947

