

Φύλλο εφαρμογής QIAasymphony® RGQ

Εφαρμογή QIAasymphony RGQ ΚΙΤ *artus*® BK Virus QS-RGQ (τύπος δείγματος: ούρα, 800 µl)



Ελέγξτε τη διαθεσιμότητα νέων ηλεκτρονικών αναθεωρήσεων επισήμανσης στη διεύθυνση www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqcrkit.aspx προτού εκτελέσετε τη δοκιμασία. Η τρέχουσα κατάσταση αναθεώρησης υποδεικνύεται από την ημερομηνία έκδοσης (μορφή: μήνας/έτος).

Γενικές πληροφορίες

Κιτ	Κιτ <i>artus</i> BK Virus QS-RGQ, Έκδοση 1, REF 4514363
Επικυρωμένο υλικό δείγματος	Ούρα
Καθαρισμός Front-end	Κιτ QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi (αρ. καταλ. 937055)
Όγκος δείγματος (συμπεριλαμβανομένου πλεονάζοντος όγκου)	1.000 µl
Σετ παραμέτρων προσδιορισμού	artus_BKV_urine800_V4
Προκαθορισμένο σετ μαρτύρων προσδιορισμού	Complex800_V6_DSP_artus_BKV
Όγκος έκλουσης	60 µl
Απαιτούμενη έκδοση λογισμικού	Έκδοση 4.0 ή μεταγενέστερη
Όγκος κύριου μείγματος	10 µl
Όγκος προτύπου	15 µl
Αριθμός αντιδράσεων	6–24*
Χρόνος εκτέλεσης στη μονάδα AS	Για 6 αντιδράσεις: περίπου 8 λεπτά Για 72 αντιδράσεις: περίπου 35 λεπτά

* Για την προετοιμασία του προσδιορισμού για τον ιό BK, έως 216 (9 x 24) προσδιορισμοί μπορούν να ρυθμισθούν σε μία εκτέλεση στο QIAasymphony AS.

Μάιος 2012



Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Κιτ καθαρισμού	■ Κιτ QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi (αρ. καταλ. 937055)
Προσαρμογείς για το QIAasymphony SP	■ Elution Microtube Rack QS (θήκη μικροσωληναρίων έκλουσης QS) (προσαρμογέας ψύξης, EMT, v2, Qsym, αρ. καταλ. 9020730) ■ Tube Insert 3B (ένθετο σωληναρίου 3B) (ένθετο, 2,0 ml v2, samplecarr. (24), Qsym, αρ. καταλ. 9242083)
Αναλώσιμα για το QIAasymphony SP	■ Sample Prep Cartridges (φύσιγγες προετοιμασίας δείγματος), 8 φρεατίων (αρ. καταλ. 997002) ■ 8-Rod Covers (καλύμματα 8 ράβδων) (αρ. καταλ. 997004) ■ Filter-Tips (ρύγχη φίλτρου), 1.500 μl (αρ. καταλ. 997024) ■ Filter-Tips (ρύγχη φίλτρου), 200 μl (αρ. καταλ. 990332) ■ Elution Microtubes CL (μικροσωληνάρια έκλουσης CL) (αρ. καταλ. 19588) ■ Tip disposal bags (σακούλες απόρριψης ρυγχών) (αρ. καταλ. 9013395) ■ Μικροσωληνάρια 2,0 ml τύπου H ή μικροσωληνάρια 2,0 ml τύπου I (Sarstedt, αρ. καταλ. 72.693 και 72.694, www.sarstedt.com) για χρήση με δείγματα και εσωτερικούς μάρτυρες
Προσαρμογείς και υποδοχές αντιδραστηρίων για το QIAasymphony AS	■ Reagent holder 1 QS (υποδοχή αντιδραστηρίου 1 QS) (προσαρμογέας ψύξης, υποδοχή αντιδραστηρίου 1, Qsym, αρ. καταλ. 9018090) ■ Reagent holder 2 QS (υποδοχή αντιδραστηρίου 2 QS) (προσαρμογέας ψύξης, υποδοχή αντιδραστηρίου 2, Qsym, αρ. καταλ. 9018089) ■ RG Strip Tubes 72 QS (σωληνάρια ταινιών RG 72 QS) (προσαρμογέας ψύξης, σωληνάρια ταινιών RG 72, Qsym, αρ. καταλ. 9018092)

Αναλώσιμα για το
QIASymphony AS

- Strip Tubes and Caps (σωληνάρια και καπάκια ταινιών), 0,1 ml (αρ. καταλ. 981103)
- Tubes, conical (σωληνάρια, κωνικά), 2 ml, Qsym AS (αρ. καταλ. 997102)* ή Micro tubes (μικροσωληνάρια) 2,0 ml τύπου I (Sarstedt, αρ. καταλ. 72.694.005)
- Tube, conical (σωληνάριο, κωνικό), 5 ml, Qsym AS (αρ. καταλ. 997104)* ή Tubes with flat base from PP (σωληνάρια με επίπεδη βάση από PP) (Sarstedt, αρ. καταλ. 60.558.001)
- Reagent Bottles (φιάλες αντιδραστηρίων), 30 ml, Qsym AS (αρ. καταλ. 997108)
- Elution Microtubes CL (μικροσωληνάρια έκλουσης CL) (αρ. καταλ. 19588)
- Filter-Tips (ρύγχη φίλτρου), 1.500 μl (αρ. καταλ. 997024)
- Filter-Tips (ρύγχη φίλτρου), 200 μl (αρ. καταλ. 990332)
- Filter-Tips (ρύγχη φίλτρου), 50 μl (αρ. καταλ. 997120)
- Tip disposal bags (σακούλες απόρριψης ρυγχών) (αρ. καταλ. 9013395)

Για προετοιμασία δειγμάτων
(ούρα)

- Buffer ATL, GPR (ρυθμιστικό διάλυμα ATL, GPR) (αρ. καταλ. 939016)

* Ρωτήστε για διαθεσιμότητα.

Χειρισμός και φύλαξη δειγμάτων

Δειγματοληψία	Ανθρώπινα ούρα
Μεταφορά δειγμάτων	Μεταφορά σε άθραυστο δοχείο Αποστολή εντός 6 ωρών Αποστολή με το ταχυδρομείο σύμφωνα με τις νόμιμες οδηγίες για τη μεταφορά παθογόνου υλικού*
Προετοιμασία δειγμάτων	Αποφύγετε τη δημιουργία αφρού μέσα ή επάνω στα δείγματα. Τα δείγματα θα πρέπει να αποκοτούν θερμοκρασία περιβάλλοντος (15-25°C) πριν από την έναρξη της εκτέλεσης.

* International Air Transport Association (Διεθνής Ένωση Αεροπορικών Μεταφορών, IATA). Dangerous Goods Regulations (Κανονισμοί περί Επικίνδυνων Εμπορευμάτων).

Διαδικασία

Προετοιμασία του RNA-φορέα και προσθήκη του εσωτερικού μάρτυρα στα δείγματα

Για τη χρήση του kit QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi σε συνδυασμό με το kit *artus* BK Virus QS-RGQ απαιτείται η εισαγωγή του εσωτερικού μάρτυρα (BK Virus RG IC) στη διαδικασία καθαρισμού, για την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της προετοιμασίας των δειγμάτων και του καθοδικού προσδιορισμού.

Οι εσωτερικοί μάρτυρες πρέπει να προστίθενται στο μείγμα φορέα RNA (CARRIER) – ρυθμιστικού διαλύματος AVE (AVE). Ο συνολικός όγκος του μείγματος εσωτερικού μάρτυρα – φορέα RNA (CARRIER) – ρυθμιστικού διαλύματος AVE (AVE) παραμένει 120 μl.

Ο πίνακας δείχνει την προσθήκη του εσωτερικού μάρτυρα στην απομόνωση, σε αναλογία 0,1 μl ανά 1 μl όγκου έκλουσης. Συνιστούμε την προετοιμασία φρέσκων μειγμάτων για κάθε εκτέλεση αμέσως πριν από τη χρήση.

Συστατικό	Όγκος (μl) (σωληνάρια Sarstedt®)*	Όγκος (μl) (σωληνάρια BD™)†
Βασικό διάλυμα φορέα RNA (CARRIER)	3	3
Εσωτερικός μάρτυρας‡	9	9
Ρυθμιστικό διάλυμα AVE	108	108
Τελικός όγκος ανά δείγμα (αποκλείοντας το νεκρό όγκο)	120	120
Συνολικός όγκος για n δείγματα	(n x 120) + 360§	(n x 120) + 600¶

* Μικροσωληνάρια 2,0 ml τύπου H και μικροσωληνάρια 2,0 ml τύπου I Sarstedt, αρ. καταλ. 72.693 και 72.694.

† Σωληνάρια των 14 ml, 17 x 100 mm πολυστυρενίου, με στρογγυλό πυθμένα (Becton Dickinson, αρ. καταλ. 352051).

‡ Ο υπολογισμός της ποσότητας του εσωτερικού μάρτυρα βασίζεται στους αρχικούς όγκους έκλουσης (90 μl). Ο πρόσθετος νεκρός όγκος εξαρτάται από τον τύπο του χρησιμοποιούμενου σωληναρίου δείγματος.

§ Απαιτείται μείγμα εσωτερικών μαρτύρων που αντιστοιχεί σε 3 πρόσθετα δείγματα (δηλ. 360 μl). Μη γεμίζετε πάνω από 1,92 ml συνολικού όγκου (που αντιστοιχεί σε μέγιστο αριθμό 13 δειγμάτων. Αυτοί οι όγκοι είναι ειδικό για μικροσωληνάρια 2,0 ml τύπου H και μικροσωληνάρια 2,0 ml τύπου I, Sarstedt αρ. καταλ. 72.693 και 72.694).

¶ Απαιτείται μείγμα εσωτερικών μαρτύρων που αντιστοιχεί σε 5 πρόσθετα δείγματα (δηλ. 600 μl). Μη γεμίζετε πάνω από 13,92 ml συνολικού όγκου (που αντιστοιχεί σε μέγιστο αριθμό 111 δειγμάτων).

Αυτοί οι όγκοι είναι ειδικοί για σωληνάρια των 14 ml, 17 x 100 mm πολυστυρενίου, με στρογγυλό πυθμένα, Becton Dickinson, αρ. καταλ. 352051).

Προετοιμασία του QIASymphony SP

Συρτάρι «Waste» (Απόβλητα)

Στήριγμα κουτιού μονάδων 1-4	Κενά κουτιά μονάδων
Στήριγμα σακούλας αποβλήτων	Σακούλα αποβλήτων
Στήριγμα φιάλης υγρών αποβλήτων	Εκκένωση και εγκατάσταση της φιάλης υγρών αποβλήτων

Συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα)

Θήκη έκλουσης	Χρησιμοποιήστε την υποδοχή 1, θέση ψύξης
Όγκος έκλουσης*	Προεπιλεγμένος όγκος έκλουσης: 60 μl Αρχικός όγκος έκλουσης: 90 μl

* Ο όγκος έκλουσης είναι προεπιλεγμένος για το πρωτόκολλο. Αυτός ο όγκος είναι ο ελάχιστος διαθέσιμος όγκος εκλούσματος για το τελικό σωληνάριο έκλουσης. Ο αρχικός όγκος του διαλύματος έκλουσης απαιτείται προκειμένου να διασφαλισθεί ότι ο πραγματικός όγκος του εκλούσματος είναι ίδιος με τον προεπιλεγμένο.

Συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα)

Θέση A1 ή/και A2	Φορτώστε 1 φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) για έως 48 δείγματα ή 2 καινούργιες φύσιγγες αντιδραστηρίων (RC) για έως 96 δείγματα
Θέση B1	Ρυθμιστικό διάλυμα ATL (ATL)
Θέσεις στηρίγματος θήκης ρυγχών 1-17	Φορτώστε επαρκή αριθμό θηκών για τα αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 μl και 1.500 μl (βλ. «Απαιτούμενα πλαστικά υλικά για 1-4 παρτίδες δειγμάτων», σ. 6)
Θέση στηρίγματος κουτιού μονάδων 1-4	Φορτώστε κουτιά μονάδων που περιέχουν φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων και περιβλήματα 8 ράβδων (βλ. «Απαιτούμενα πλαστικά υλικά για 1-4 παρτίδες δειγμάτων», σελ. 6)

Συρτάρι «Sample» (Δείγμα)

Τύπος δείγματος	Ούρα
Όγκος δείγματος (συμπεριλαμβανομένου πλεονάζοντος όγκου)	1.000 μl
Σωληνάρια δειγμάτων	Μικροσωληνάρια 2,0 ml τύπου H ή μικροσωληνάρια 2,0 ml τύπου I (Sarstedt, αρ. καταλ. 72.693 και 72.694)
Ένθετο	Ένθετο σωληναρίου 3B (αρ. καταλ. 9242083)

Απαιτούμενα πλαστικά υλικά για 1-4 παρτίδες δειγμάτων

	Μία παρτίδα, 24 δείγματα*	Δύο παρτίδες, 48 δείγματα*	Τρεις παρτίδες, 72 δείγματα*	Τέσσερις παρτίδες, 96 δείγματα*
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 μl ^{†‡}	34	60	86	112
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 1.500 μl ^{†‡}	123	205	295	385
Φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων [§]	18	36	54	72
Περιβλήματα 8 ράβδων [¶]	3	6	9	12

* Για τη χρήση περισσότερων του ενός σωληναρίων εσωτερικού μάρτυρα ανά παρτίδα και η εκτέλεση περισσότερων της μίας σαρώσεων υλικών απαιτούνται πρόσθετα αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου.

† Υπάρχουν 32 ρύγχη φίλτρου/θήκη ρυγχών.

‡ Ο αριθμός των απαιτούμενων ρυγχών φίλτρου περιλαμβάνει ρύγχη φίλτρου για 1 σάρωση υλικού ανά φύσιγγα αντιδραστηρίων.

§ Κάθε κουτί μονάδων περιέχει 28 φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων.

¶ Κάθε κουτί μονάδων περιέχει δώδεκα περιβλήματα 8 ράβδων.

Προετοιμασία του QIASymphony AS

Αναλώσιμα

Κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας, οι κατάλληλες θέσεις για κάθε αναλώσιμο στη μονάδα QIASymphony AS υποδεικνύονται στην οθόνη αφής του οργάνου.

Αναλώσιμα	Όνομα στην οθόνη αφής	Για χρήση με προσαρμογέα/υποδοχή αντιδραστηρίου
Σωληνάρια και καπάκια ταινιών, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	Σωληνάρια ταινιών RG 72 QS
Σωληνάρια, κωνικά, 2 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt‡	Υποδοχή αντιδραστηρίου 1 QS Υποδοχή αντιδραστηρίου 2 QS
Σωληνάρια, κωνικά, 5 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt‡	Υποδοχή αντιδραστηρίου 1 QS Υποδοχή αντιδραστηρίου 2 QS
Φιάλες αντιδραστηρίων, 30 ml, Qsym AS (50)*	QIA#997108 *Bottle 30 ml‡	Υποδοχή αντιδραστηρίου 2 QS
Μικροσωληνάρια έκλουσης CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Θήκη μικροσωληναρίων έκλουσης QS

* Για συστατικά κύριου μείγματος, προετοιμαζόμενο από το σύστημα κύριο μείγμα, πρότυπα διαλύματα προσδιορισμού και μάρτυρες προσδιορισμού.

† Εναλλακτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν τα σωληνάρια Sarstedt που περιγράφονται στην ενότητα «Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται», σ. 2.

‡ Το επίθημα «(m)» στην οθόνη αφής υποδεικνύει ότι οι υπολογισμοί στάθμης υγρού για το αντίστοιχο σωληνάριο έχουν βελτιστοποιηθεί για αντιδραστήρια που σχηματίζουν κίλο μηνίσκο.

Προσαρμογείς και υποδοχές αντιδραστηρίων

Θήκη/υποδοχή αντιδραστηρίου	Όνομα	Απαιτούμενος αριθμός [§]
Θήκη δειγμάτων	Θήκη μικροσωληναρίων έκλουσης QS	1
Υποδοχές αντιδραστηρίων	Υποδοχή αντιδραστηρίου 1 QS	1
Θήκες προσδιορισμού	Σωληνάρια ταινιών RG 72 QS	1

[§] Υπολογίζεται για μία εκτέλεση προσδιορισμού με 72 αντιδράσεις.

Ρύγχη φίλτρου

Φορτώστε θήκες ρυγχών αρχίζοντας με τις υποδοχές ρύγχους 1, 2 και 3 στο συρτάρι «Eluate and Reagents» (έκλουσμα και αντιδραστήρια) και στη συνέχεια φορτώστε θήκες ρυγχών στις υποδοχές ρύγχους 7, 8 και 9 στο συρτάρι «Assays» (προσδιορισμοί).

Αναλώσιμο	Όνομα στην οθόνη αφής	Ελάχιστος αριθμός για 24 αντιδράσεις	Ελάχιστος αριθμός για 72 αντιδράσεις
Ρύγχη φίλτρου, 1.500 μl (1.024)	1.500 μl	3	4
Ρύγχη φίλτρου, 200 μl (1.024)	200 μl	5	5
Ρύγχη φίλτρου, 50 μl (1.024)	50 μl	25	73
Σακούλες απόρριψης ρυγχών	–	1	1

RT-PCR στο Rotor-Gene Q

Ανατρέξτε στο ειδικό για το λογισμικό φύλλο πρωτοκόλλου «Settings to run *artus* QS-RGQ Kits» (Ρυθμίσεις για την εκτέλεση των κιτ *artus* QS-RGQ) στη διεύθυνση www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqcrkit.aspx.

Ειδικές ρυθμίσεις για το κιτ *artus* BK Virus QS-RGQ

Το Rotor-Gene AssayManager ρυθμίζει αυτόματα τις παραμέτρους για το κιτ *artus* BK Virus QS-RGQ.

Με το λογισμικό Rotor-Gene 2.1, οι ειδικές ρυθμίσεις εμφανίζονται παρακάτω.

Όγκος αντίδρασης (μl)	50
Διατήρηση	Θερμοκρασία διατήρησης: 95 βαθμοί Χρόνος διατήρησης: 10 λεπτά
Cycling (Κύκλοι)	45 φορές 95 βαθμοί για 15 δευτερόλεπτα 65 βαθμοί για 30 δευτερόλεπτα 72 βαθμοί για 20 δευτερόλεπτα Βεβαιωθείτε πως έχετε ενεργοποιήσει τη λειτουργία touchdown για 10 κύκλους στο βήμα ανασύνδεσης.
Ρύθμιση παραμέτρων αυτόματης βελτιστοποίησης απολαβής	65 βαθμοί (Δείγματα: Πράσινο, IC: Πορτοκαλί)

Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Αυτή η ενότητα περιγράφει την ερμηνεία των αποτελεσμάτων στο Rotor-Gene Q. Ανασκοπήστε επίσης τις πληροφορίες κατάστασης δείγματος από τα αρχεία αποτελεσμάτων του QIASymphony SP/AS για ανάλυση της πλήρους ροής εργασίας από το δείγμα έως το αποτέλεσμα. Πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο δείγματα με έγκυρη κατάσταση.

Το Rotor-Gene AssayManager ερμηνεύει αυτόματα τα αποτελέσματα PCR και παρέχει ένα συμπέρασμα και ποσοτικό αποτέλεσμα.

Οι ακόλουθες ενότητες περιγράφουν την ερμηνεία των αποτελεσμάτων χρησιμοποιώντας το λογισμικό Rotor-Gene 2.1 ή μεταγενέστερο.

Ανίχνευση σήματος και συμπεράσματα — ούρα 800 μl

Σήμα στο κανάλι Cycling Green	Σήμα στο κανάλι Cycling Orange	Ποσοτικό αποτέλεσμα (αντίγραφα/ml)	Ερμηνεία
Ναι	Ναι	< 78,5	Έγκυρο αποτέλεσμα: Ανιχνεύθηκε DNA από ιό BK, <100 αντίγραφα/ml Η ποσοτικοποίηση δεν είναι δυνατή εφόσον το ποσοτικό αποτέλεσμα βρίσκεται κάτω από το όριο ανίχνευσης. Η αναπαραγωγικότητα του θετικού αποτελέσματος δεν είναι διασφαλισμένη.
Ναι	Ναι	≥78,5 και <100	Έγκυρο αποτέλεσμα: Ανιχνεύθηκε DNA από ιό BK, <100 αντίγραφα/ml Η ποσοτικοποίηση δεν είναι δυνατή εφόσον το ποσοτικό αποτέλεσμα βρίσκεται κάτω από το γραμμικό εύρος του προσδιορισμού.
Ναι	Ναι	≥100 και ≤1 x 10 ⁹	Έγκυρο αποτέλεσμα: Ανιχνεύθηκε DNA από ιό BK στην υπολογισμένη συγκέντρωση Το ποσοτικό αποτέλεσμα βρίσκεται εντός του γραμμικού εύρους του προσδιορισμού.
Ναι	Ναι	>1 x 10 ⁹	Έγκυρο αποτέλεσμα: Ανιχνεύθηκε DNA από ιό BK, >1 x 10 ⁹ αντίγραφα/ml Η ποσοτικοποίηση δεν είναι δυνατή εφόσον το ποσοτικό αποτέλεσμα βρίσκεται πάνω από το γραμμικό εύρος του προσδιορισμού.*
Όχι	Ναι	–	Έγκυρο αποτέλεσμα: Δεν είναι ανιχνεύσιμο DNA από ιό BK.†
Όχι	Όχι	–	Μη έγκυρο αποτέλεσμα: Η λήψη αποτελέσματος δεν είναι δυνατή.‡

* Εάν είναι επιθυμητή ποσοτικοποίηση, αραιώστε το δείγμα με ούρα ελεύθερα από ιό BK και επαναλάβετε την επεξεργασία. Πολλαπλασιάστε το ποσοτικό αποτέλεσμα από το επανεπεξεργασμένο δείγμα επί το συντελεστή αραιώσης.

† Εάν η τιμή C_T για τον εσωτερικό μάρτυρα ενός αρνητικού δείγματος είναι για περισσότερους από 3 κύκλους μεγαλύτερη από την τιμή C_T για τον εσωτερικό μάρτυρα του μάρτυρα χωρίς μήτρα στην εκτέλεση (C_{T IC Sample} – C_{T IC NTC} >3), τότε το δείγμα πρέπει να θεωρηθεί ως μη έγκυρο. Η λήψη αποτελέσματος δεν είναι δυνατή.

‡ Πληροφορίες σχετικά με τις πηγές σφαλμάτων και την επίλυσή τους παρέχονται στον οδηγό «Troubleshooting guide» (Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων) του εγχειριδίου *kit artus BK Virus QS-RGQ*.

Ρυθμίσεις κατωφλίου για την ανάλυση PCR

Οι βέλτιστες ρυθμίσεις κατωφλίου για ένα δεδομένο συνδυασμό του οργάνου Rotor-Gene Q και του *kit artus QS-RGQ* πρέπει να καθορίζονται εμπειρικά με δοκιμασία κάθε επιμέρους συνδυασμού, εφόσον πρόκειται για σχετική τιμή ανάλογα με τη συνολική διαγνωστική ροή εργασίας. Το κατώφλι μπορεί να ρυθμιστεί σε μια προκαταρκτική τιμή 0,04 για την ανάλυση της πρώτης εκτέλεσης PCR, αλλά αυτή η τιμή θα πρέπει να ρυθμιστεί περαιτέρω σε μια συγκριτική ανάλυση των επόμενων εκτελέσεων της ροής εργασίας. Το κατώφλι πρέπει να ρυθμιστεί χειροκίνητα μόλις πάνω από το σήμα υποβάθρου των αρνητικών μαρτύρων και αρνητικών δειγμάτων. Η μέση τιμή κατωφλίου που υπολογίζεται από αυτά τα πειράματα πιθανότητα θα λειτουργεί για την πλειονότητα των μελλοντικών εκτελέσεων, ωστόσο ο χρήστης θα πρέπει να πραγματοποιεί ανασκόπηση της παραγόμενης τιμής κατωφλίου σε τακτικά διαστήματα. Η τιμή κατωφλίου θα βρίσκεται συνήθως στο εύρος από 0,03-0,05 και πρέπει να στρογγυλοποιείται σε έως και τρία δεκαδικά ψηφία.

Ποσοτικός προσδιορισμός

Τα πρότυπα ποσοτικοποίησης (BK Virus RG QS 1–4) στο *kit artus BK Virus QS-RGQ* αντιμετωπίζονται ως προηγουμένως καθαρισμένα δείγματα και χρησιμοποιείται ο ίδιος όγκος (15 μl). Για να δημιουργήσετε μια πρότυπη καμπύλη σε όργανα Rotor-Gene Q θα πρέπει να χρησιμοποιήσετε και τα 4 πρότυπα ποσοτικοποίησης και να τα ορίσετε στο πλαίσιο διαλόγου «Edit Samples» (Επεξεργασία δειγμάτων) στο όργανο Rotor-Gene Q ως πρότυπα με τις συγκεκριμένες συγκεντρώσεις (βλ. εγχειρίδιο χρήσης του οργάνου).

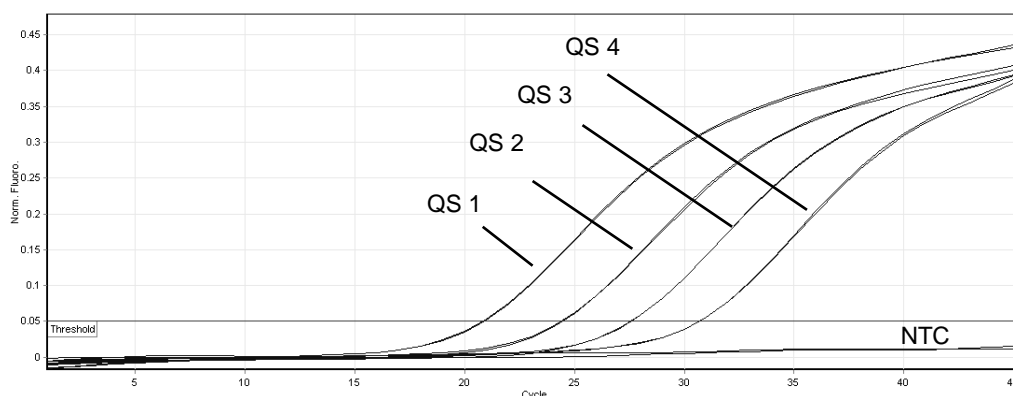
Σημείωση: Τα πρότυπα ποσοτικοποίησης ορίζονται ως αντίγραφα/μl. Η παρακάτω εξίσωση πρέπει να χρησιμοποιηθεί για τη μετατροπή των τιμών που προσδιορίζονται με χρήση της πρότυπης καμπύλης σε αντίγραφα/ml του υλικού δείγματος.

$$\text{Αποτέλεσμα (αντίγραφα/ml)} = \frac{\text{Αποτέλεσμα (αντίγραφα/μl)} \times \text{Όγκος αρχικής έκλουσης (90 μl)*}}{\text{Όγκος δείγματος (ml)}}$$

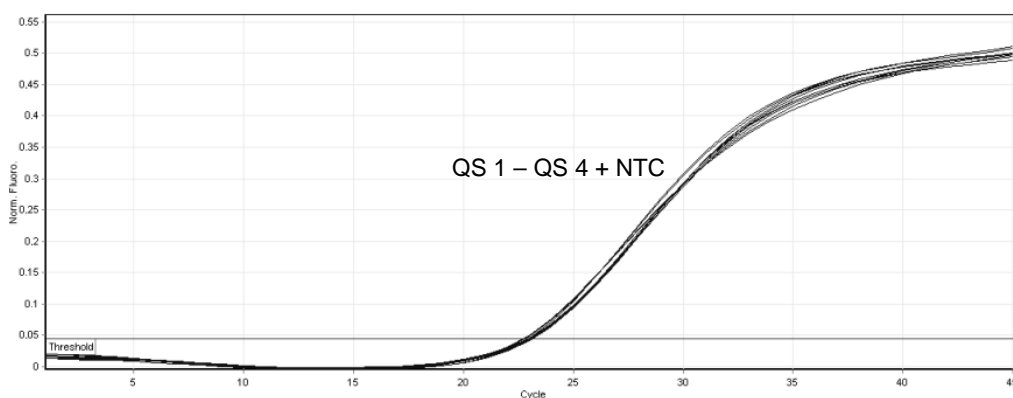
Κατ' αρχήν, ο αρχικός όγκος δείγματος πρέπει να καταχωρηθεί στην παραπάνω εξίσωση. Αυτό πρέπει να ληφθεί υπόψη σε περίπτωση τροποποίησης του όγκου δείγματος πριν από την εκχύλιση του νουκλεϊκού οξέος (π.χ., μείωση του όγκου με φυγοκέντρηση ή αύξηση του όγκου με προσθήκη του απαιτούμενου για την απομόνωση όγκου).

* Ο υπολογισμός βασίζεται στους αρχικούς όγκους έκλουσης (90 μl).

Παραδείγματα θετικών και αρνητικών αντιδράσεων PCR



Ανίχνευση των προτύπων ποσοτικοποίησης (BK Virus RG QS 1–4) στο κανάλι φθορισμού **Cycling Green**. NTC: No template control (μάρτυρας χωρίς μήτρα) (αρνητικός μάρτυρας).



Ανίχνευση του εσωτερικού μάρτυρα (IC) στο κανάλι φθορισμού **Cycling Orange** με ταυτόχρονη ενίσχυση των προτύπων ποσοτικοποίησης (BK Virus RG QS 1–4). NTC: No template control (μάρτυρας χωρίς μήτρα) (αρνητικός μάρτυρας).

Για ενημερωμένες πληροφορίες άδειας και δηλώσεις αποποίησης ευθύνης σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στο αντίστοιχο εγχειρίδιο κιτ QIAGEN ή εγχειρίδιο χρήστη. Τα εγχειρίδια των κιτ QIAGEN και τα εγχειρίδια χρήστη είναι διαθέσιμα στον ιστότοπο www.qiagen.com. Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της QIAGEN ή τον αντιπρόσωπο της περιοχής σας.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (Όμιλος QIAGEN), BD™ (Becton, Dickinson and Company), Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.).

© 2012 QIAGEN, με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

www.qiagen.com

Canada = 800-572-9613

Ireland = 1800 555 049

Norway = 800-18859

China = 021-3865-3865

Italy = 800-787980

Singapore = 65-67775366

Denmark = 80-885945

Japan = 03-6890-7300

Spain = 91-630-7050

Australia = 1-800-243-800

Finland = 0800-914416

Κορέα (Νότια) = 1544 7145

Sweden = 020-790282

Austria = 0800/281010

France = 01-60-920-930

Luxembourg = 8002 2076

Switzerland = 055-254-22-11

Belgium = 0800-79612

Germany = 02103-29-12000

Mexico = 01-800-7742-639

UK = 01293-422-911

Brazil = 0800-557779

Hong Kong = 800 933 965

The Netherlands = 0800 0229592

USA = 800-426-8157



Sample & Assay Technologies