

QIASymphony® RGQ Protokollblatt

Laufeinstellungen für den *artus*® CT/NG QS-RGQ Kit (Rotor-Gene® Q Software 2.1)



Kontrollieren Sie, ob unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgqkitce.aspx neue elektronische Revisionen vorliegen, bevor Sie mit der Testdurchführung beginnen. Der aktuelle Revisionsstatus wird durch das Veröffentlichungsdatum (im Format: Monat/Jahr) angegeben.

Allgemeine Informationen

CE
0197

artus CT/NG QS-RGQ Kit

Version 1, **REF** 4569365

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Machen Sie sich mit dem Rotor-Gene Q Thermocycler vertraut, bevor Sie mit dem Protokoll beginnen. Lesen Sie das Geräte-Handbuch.
- Weitere Informationen finden Sie auch in dem *artus CT/NG QS-RGQ Kit Handbuch* und im entsprechenden Applikationsblatt, das unter www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgqkitce.aspx verfügbar ist.
- Stellen Sie sicher, dass sowohl die Positiv-/Negativkontrollen als auch mindestens eine Negativkontrolle ohne Template (NTC, im Kit mitgeliefert und vom AS-Modul pipettiert) pro PCR-Lauf mitgeführt werden. Da mit dem *artus* CT/NG QS-RGQ Kit ein qualitativer Assay durchgeführt wird, sind keine Quantifizierungs-Standards im Kit enthalten.

Durchführung

1. **Setzen Sie die PCR-Reaktionsgefäße in den 72-Well-Rotor des Rotor-Gene Q.**
2. **Setzen Sie in alle übrigen Positionen ein leeres Reaktionsgefäß (mitsamt Deckel) ein.**
Dadurch wird eine optimale Temperaturverteilung im Rotor-Gene Q gewährleistet.
3. **Sichern Sie die PCR-Gefäße im Rotor mit dem Sicherungsring ("Locking Ring").**
4. **Laden Sie die Thermocycler-Datei vom QIASymphony AS herunter und übertragen Sie sie auf den Rotor-Gene Q Computer.**

Juni 2013



Sample & Assay Technologies

5. Öffnen Sie das Dialogfenster "New Run Wizard" (siehe Abb. 1). Aktivieren Sie das Kontrollkästchen "Locking Ring Attached" („Sicherungsring festgemacht“) und klicken Sie dann auf "Next" („Weiter“).

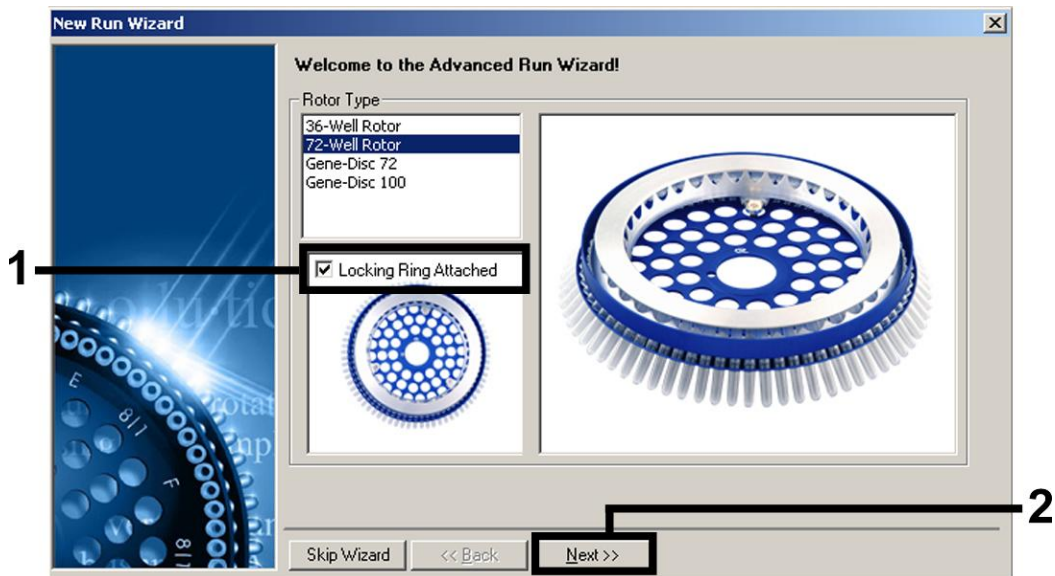


Abbildung 1. Das Dialogfenster "New Run Wizard".

6. Wählen Sie 25 als das Reaktionsvolumen der PCR und klicken Sie wiederum auf "Next" (siehe Abb. 2).

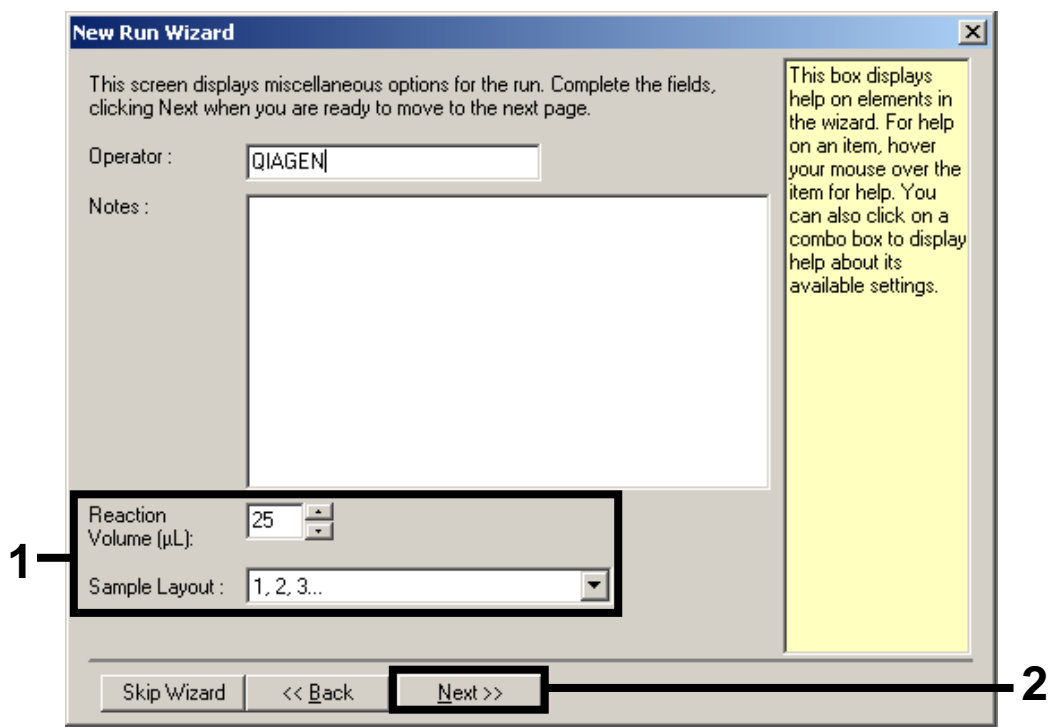


Abbildung 2. Einstellung der allgemeinen (PCR-)Assay-Parameter.

7. Klicken Sie im nächsten "New Run Wizard"-Dialogfenster auf die Schaltfläche "Edit Profile", um das Profil zu bearbeiten (siehe Abb. 3). Programmieren Sie das in Tabelle 1 wiedergegebene Temperaturprofil ein. Die in den Abbildungen 3 bis 5 dargestellten Screenshots sollen Ihnen dabei als Leitfaden dienen.

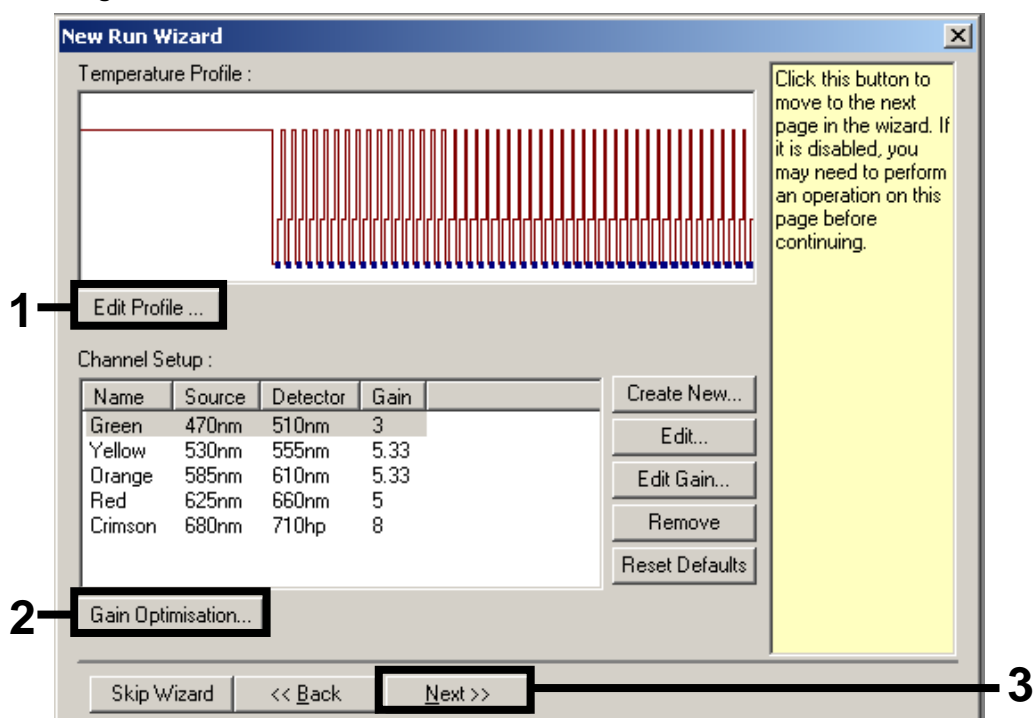


Abbildung 3. Bearbeitung des Profils.

Tabelle 1. Temperaturprofil für den *artus* CT/NG QS-RGQ Kit

Halten ("Hold")	Temperatur: 95 °C ("95 deg.") Zeit: 15 Minuten
Halten 2 ("Hold 2")	Dieser Schritt ist nicht erforderlich.
Zykleneinstellungen	45 Zyklen 95 °C für 11 Sekunden 60 °C für 20 Sekunden 72 °C für 20 Sekunden

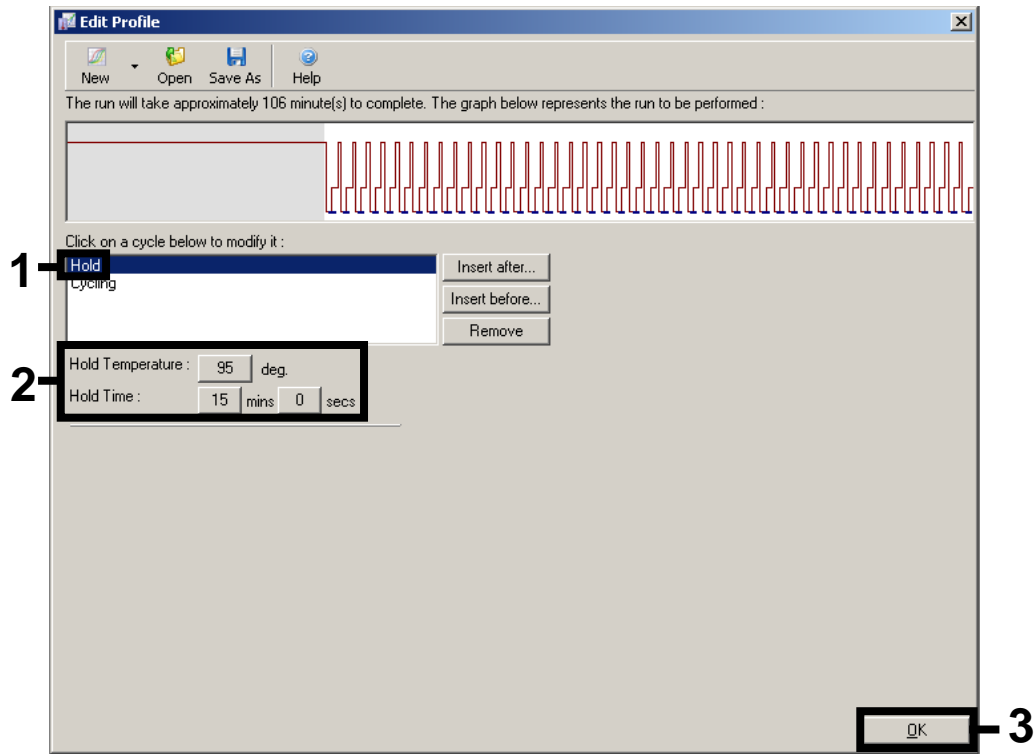


Abbildung 4. Initiale Aktivierung des Hot-Start-Enzyms.

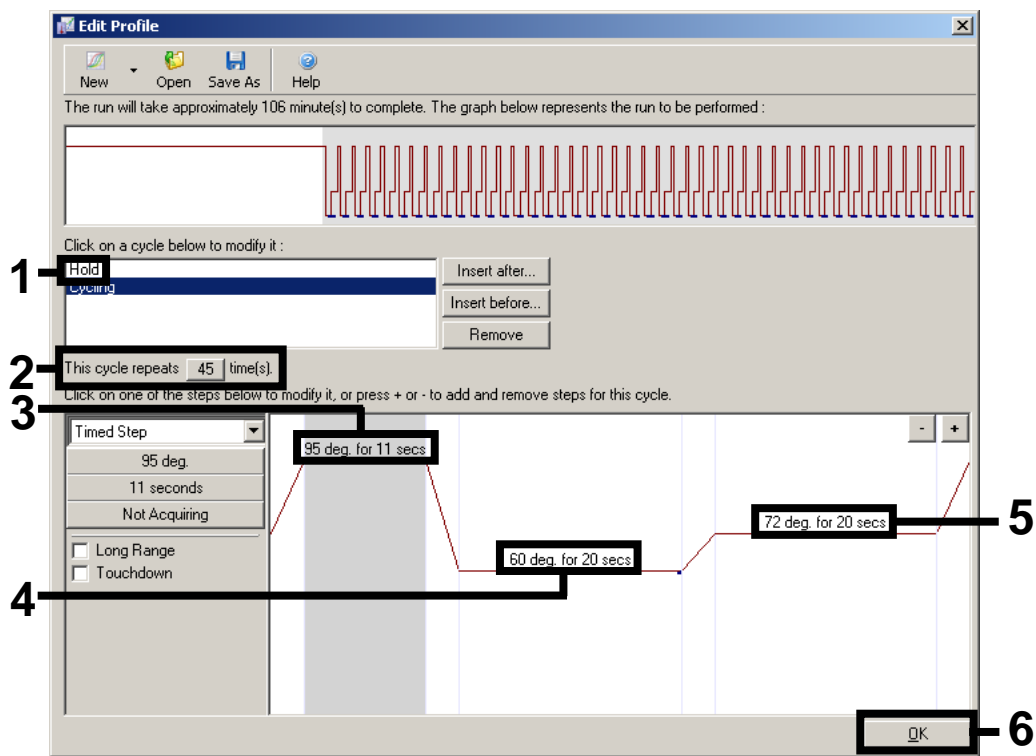


Abbildung 5. Amplifikation der DNA.

8. Der Messbereich der Fluoreszenz-Kanäle muss entsprechend den Fluoreszenzintensitäten in den PCR-Ansätzen bestimmt werden. Klicken Sie im "New Run Wizard"-Dialogfenster (siehe Abb. 3 auf Seite 3) auf die Option "Gain Optimisation" („Verstärkungsoptimierung“), um das Dialogfenster "Auto-Gain Optimisation Setup" („Einstellung der Auto-Verstärkungsoptimierung“) zu öffnen. Bitte stellen Sie die Kalibrierungs-Temperatur auf 60 °C, damit diese der Annealing-Temperatur des Amplifikations-Programms entspricht (siehe Abb. 6).

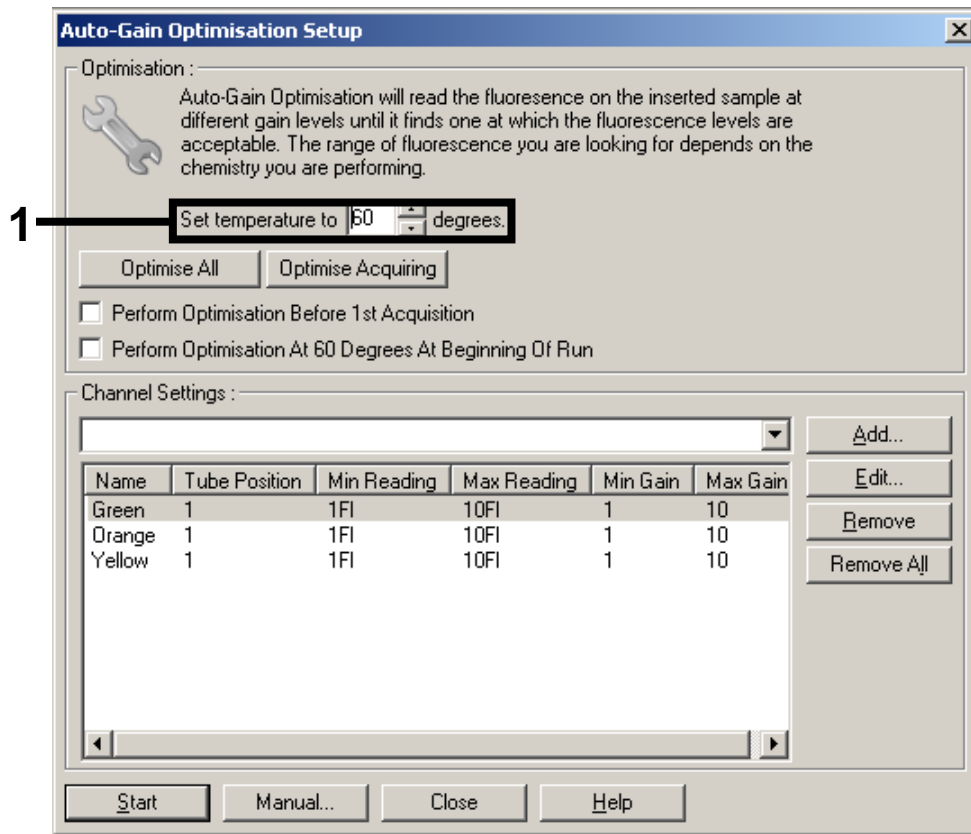


Abbildung 6. Einstellung der Sensitivität der Fluoreszenz-Kanäle.

9. Passen Sie die Verstärkungsoptimierung an. Stellen Sie einen "Target Sample Range" („Proben-Zielwertebereich“) von 1 FI bis 10 FI und einen "Acceptable Gain Range" („Akzeptabler Verstärkungsbereich“) von 1 bis 10 ein (siehe Abb. 7, Beispiel für den Kanal „Grün“). Diese Einstellungen müssen für jeden Kanal (Grün, Gelb und Orange) vorgenommen werden.

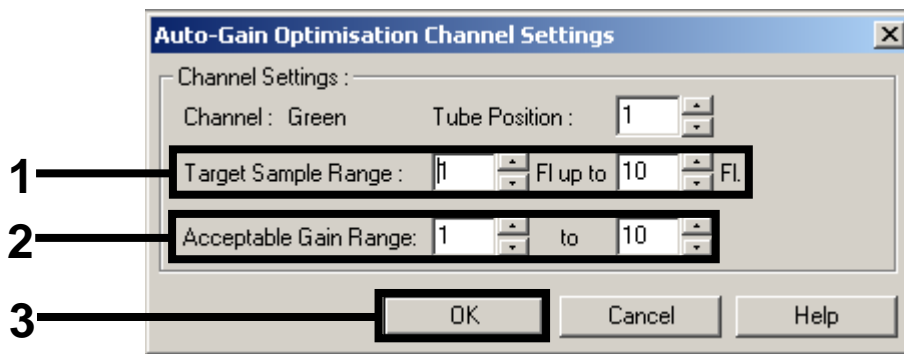


Abbildung 7. Einstellen der Verstärkungsoptimierung für den Kanal „Grün“. Diese Einstellungen müssen für jeden Kanal (Grün, Gelb und Orange) vorgenommen werden.

10. Klicken Sie auf die „Start“-Schaltfläche, um die Verstärkungsoptimierung zu starten. Klicken Sie nach Abschluss der Verstärkungsoptimierung auf „Close“ („Schließen“), um zum „New Run Wizard“-Dialogfenster zurückzukehren (siehe Abb. 8).

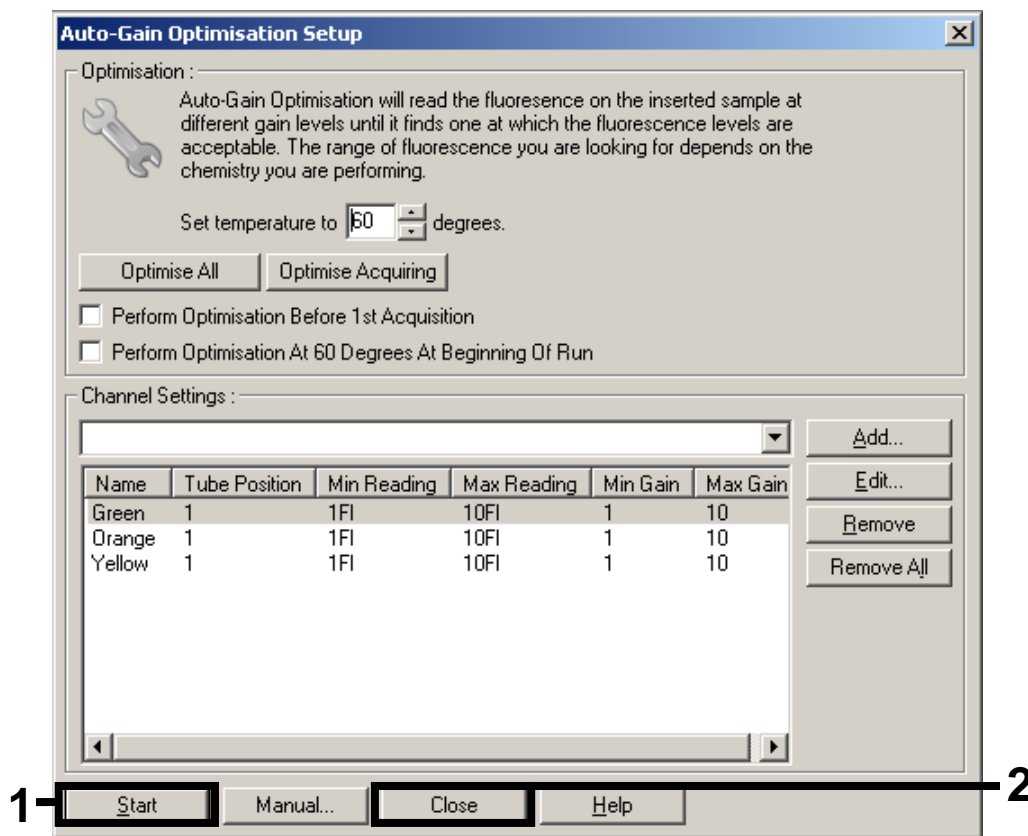


Abbildung 8. Verstärkungsoptimierung.

11. Die durch die Kanal-Kalibrierung ermittelten Gain-Werte werden automatisch gespeichert und sind im letzten Dialogfenster der Programmierung aufgeführt (siehe Abb. 9). Klicken Sie auf "Start Run" („Lauf starten“).

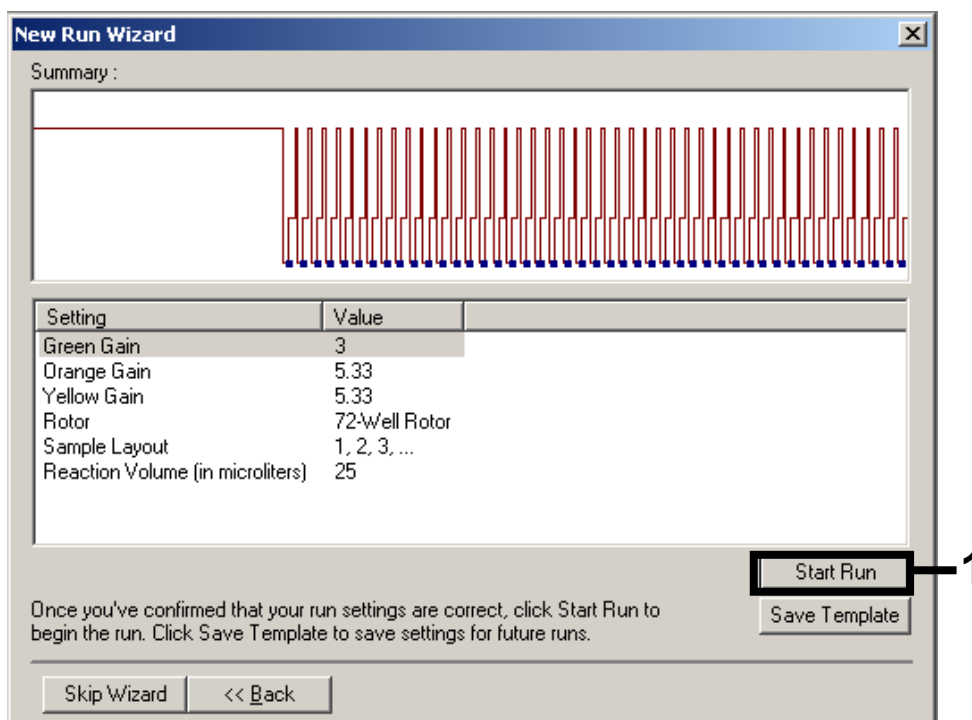



Abbildung 9. Starten des Laufs.

12. Importieren Sie nach Starten des Laufs die Daten aus der Thermocycler-Datei, indem Sie auf die Schaltfläche  („Öffnen“) klicken oder bearbeiten Sie die Proben von Hand.
13. Informationen zur Interpretation der Ergebnisse finden Sie im Geräte-Handbuch und im entsprechenden QIASymphony RGQ Applikationsblatt, das unter www.qiagen.com/products/artusctnqsrqkkitce.aspx verfügbar ist.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Anwendungseinschränkungen finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit- oder Geräte-Handbuch. QIAGEN Kit- und Geräte-Handbücher stehen unter www.qiagen.com zur Verfügung oder können Sie vom QIAGEN Technischen Service oder dem für Sie zuständigen Außendienstmitarbeiter oder Distributor anfordern.

Warenzeichen/Markennamen: QIAGEN®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN-Gruppe).

© 2013 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

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

