

Scheda del protocollo QIASymphony® RGQ

Impostazioni per eseguire *artus*® QS-RGQ Kit
(software Rotor-Gene® Q 2.1 o versione
successiva)

	<i>artus</i> BK Virus QS-RGQ Kit	Versione 1, REF 4514363
	<i>artus</i> CMV QS-RGQ Kit	Versione 1, REF 4503363
	<i>artus</i> EBV QS-RGQ Kit	Versione 1, REF 4501363
	<i>artus</i> HBV QS-RGQ Kit	Versione 1, REF 4506363, 4506366
	<i>artus</i> HCV QS-RGQ Kit	Versione 1, REF 4518363, 4518366
	<i>artus</i> HI Virus-1 QS-RGQ Kit	Versione 1, REF 4513363, 4513366
	<i>artus</i> HSV-1/2 QS-RGQ Kit	Versione 1, REF 4500363
	<i>artus</i> VZV QS-RGQ Kit	Versione 1, REF 4502363

Gestione delle versioni

Il presente documento è la Scheda del Protocollo QIASymphony
RGQ, versione 1, R3.



Prima di eseguire i test verificare la disponibilità di nuove
revisioni delle etichette elettroniche sul sito
www.qiagen.com.



Sample & Assay Technologies

Scheda del protocollo QIASymphony® RGQ

Accorgimenti importanti prima di iniziare

- Acquisire esperienza con l'uso dello strumento Rotor-Gene Q prima di avviare il protocollo. Fare riferimento al manuale utente dello strumento.
- Consultare anche il manuale dell'*artus* QS-RGQ Kit e la scheda di applicazione disponibile all'indirizzo www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.
- Accertarsi che in ogni PCR siano inclusi tutti gli standard di quantificazione e almeno un controllo negativo (acqua, grado PCR). Per generare una curva standard, utilizzare tutti gli standard di quantificazione forniti.

Gennaio 2014



Sample & Assay Technologies

Procedura

1. Collocare le provette per PCR nel 72-Well Rotor del Rotor-Gene Q. Fissare il rotore con l'anello di bloccaggio.
2. Trasferire il file del termociclatore dal QIASymphony AS al computer del Rotor-Gene Q.
3. Aprire la finestra di dialogo "New Run Wizard" (Procedura guidata nuovo processo) (Figura 1). Selezionare la casella "Locking Ring Attached" (Anello di bloccaggio collegato) e cliccare su "Next" (Avanti).

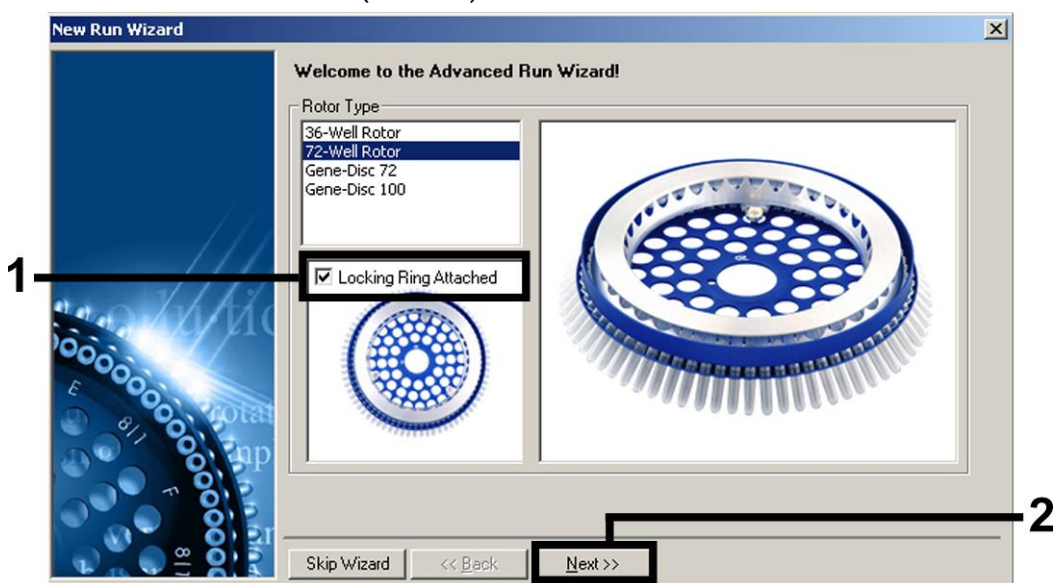


Figura 1. Finestra di dialogo "New Run Wizard" (Procedura guidata nuovo processo).

4. Selezionare 50 per il volume di reazione PCR e cliccare su "Next" (Avanti) (Figura 2).

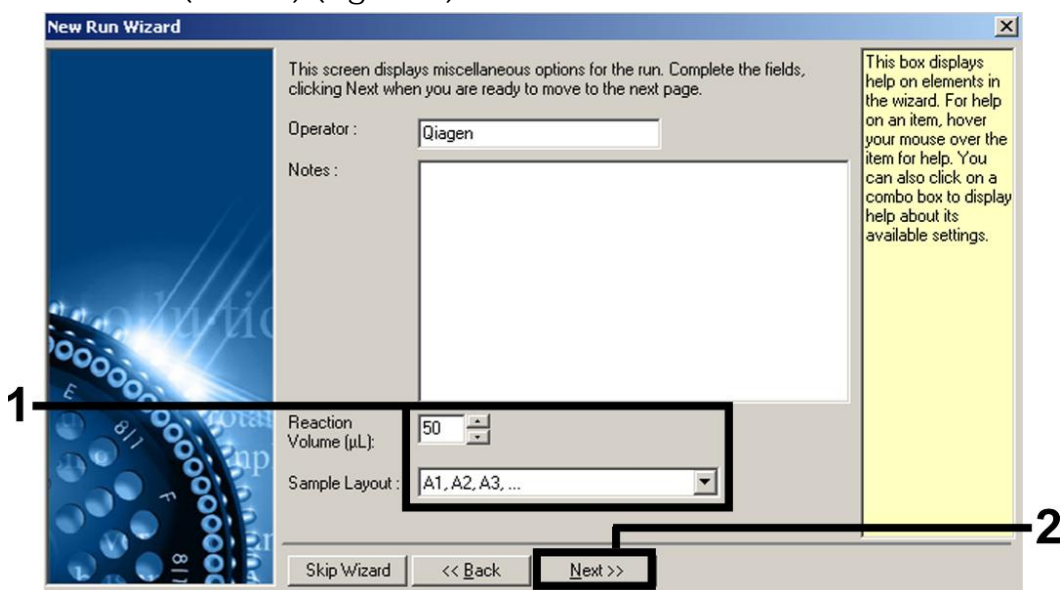


Figura 2. Impostazione dei parametri generali del saggio. Nota: anche se il volume fisico di reazione non è 50 µl, selezionare comunque 50 per il volume di reazione nel software Rotor-Gene.

5. Cliccare sul pulsante "Edit Profile" (Modifica profilo) nella successiva finestra di dialogo "New Run Wizard" (Procedura guidata nuovo processo) (Figura 3). Programmare un adeguato profilo termico per il corrispondente *artus* QS-RGQ Kit come illustrato nella Tabella 1, utilizzando come guida le schermate a titolo d'esempio riportate nelle Figure 3–6 (sono illustrate le schermate per l'*artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit).

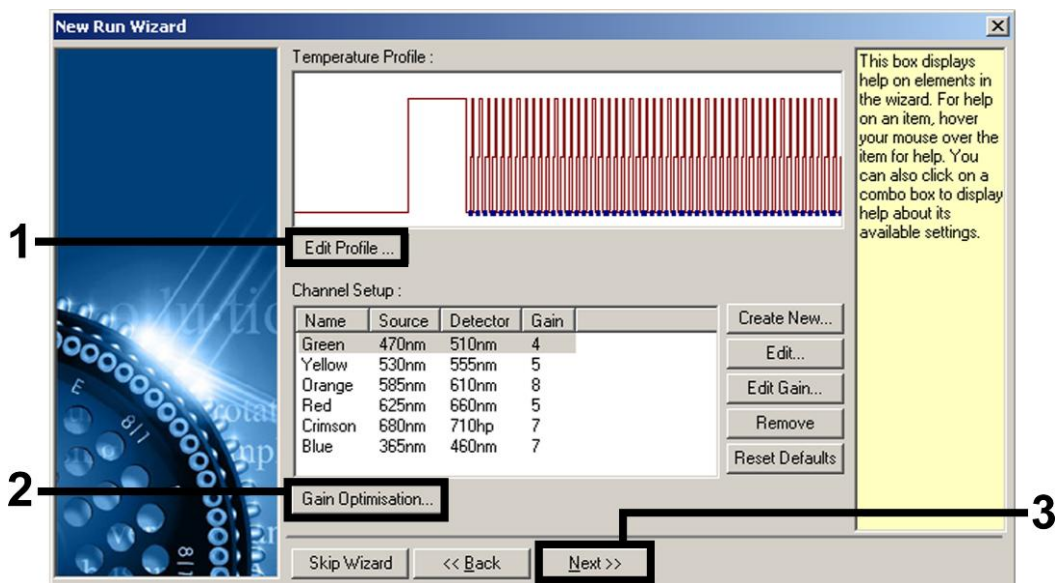


Figura 3. Modifica del profilo. Schermata relativa all' *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit illustrata a titolo d' esempio.

Tabella 1. Profili termici per *artus* QS-RGQ Kit

Scheda del protocollo QIAasympyphony RGQ: impostazioni per eseguire *artus* QS-RGQ Kit

(software Rotor-Gene Q 2.1 o versione successiva)

pagin

<i>artus</i> Kit	QS-RGQ	Virus BK, CMV, EBV, HSV-1/2, VZV	HBV	HCV, HIV-1		
Hold (Mantenimento)		Temperature (Temperatura): 95°	Temperature (Temperatura): 95°	Temperature (Temperatura): 50°		
		Time (Durata): 10 minuti	Time (Durata): 10 minuti	Time (Durata): 30 minuti		
Hold (Mantenimento)	2	Fase richiesta	non	Fase richiesta	non	Temperature (Temperatura): 95°
						Time (Durata): 15 minuti
Cycling (Ciclo)		45 volte	45 volte	50 volte		
		95° per 15 secondi	95° per 15 secondi	95° per 30 secondi		
		65° per 30 secondi	55° per 30 secondi	50° per 60 secondi		
		72° per 20 secondi	72° per 15 secondi	72° per 30 secondi		
		Accertarsi di attivare la funzione di touchdown per 10 cicli nella fase di annealing.				

Nota: consultare la corrispondente Scheda di applicazione disponibile all'indirizzo www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.

Scheda del protocollo QIASymphony RGQ: impostazioni per eseguire *artus* QS-RGQ Kit
(software Rotor-Gene Q 2.1 o versione successiva)

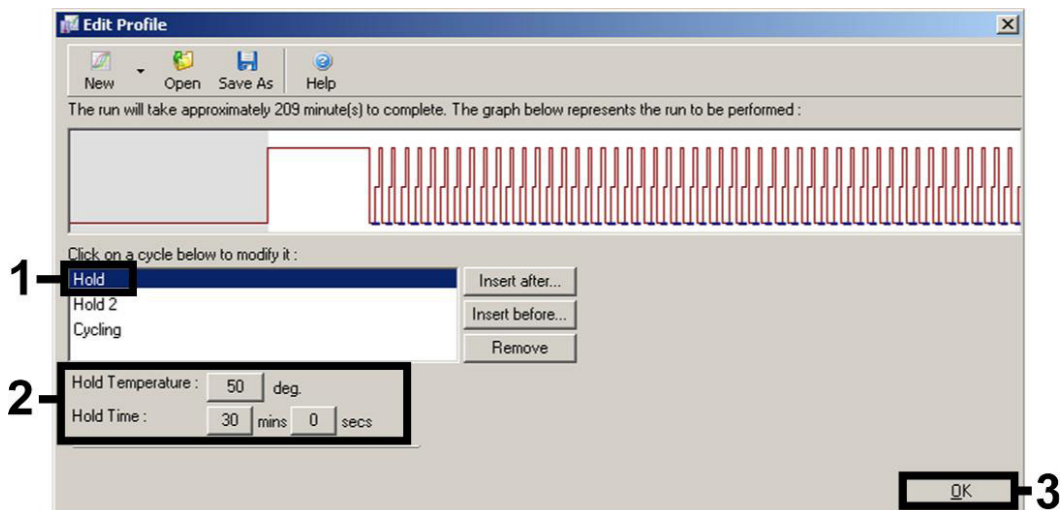


Figura 4. Trascrittasi inversa dell'RNA. Schermata relativa all' *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit illustrata a titolo d'esempio. Nota: questa fase può differire per altri *artus* QS-RGQ Kit. Vedere la Tabella 1 per le informazioni specifiche riguardanti ciascun *artus* QS-RGQ Kit.

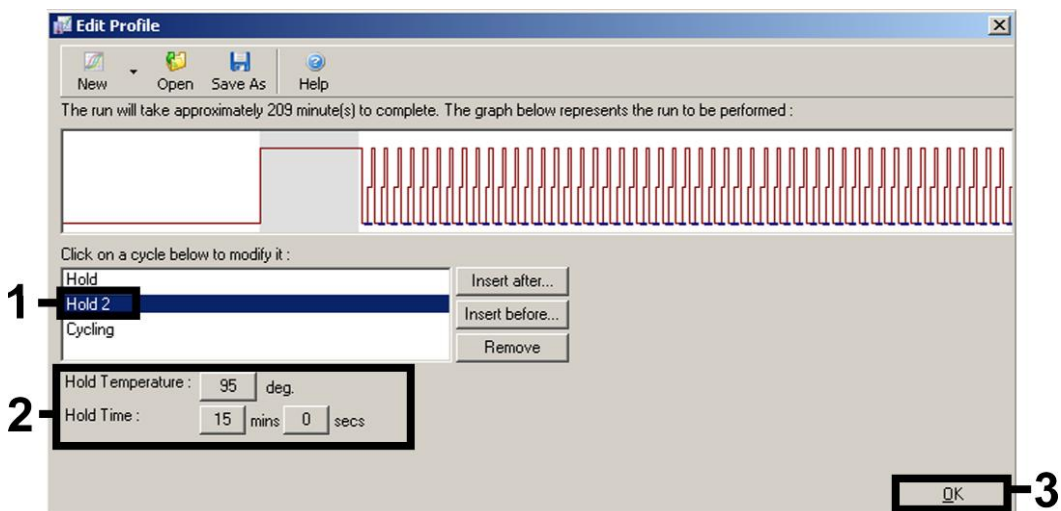


Figura 5. Attivazione iniziale dell'enzima hot-start. Schermata relativa all' *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit illustrata a titolo d'esempio. Nota: questa fase può differire per altri *artus* QS-RGQ Kit. Vedere la Tabella 1 per le informazioni specifiche riguardanti ciascun *artus* QS-RGQ Kit.

Scheda del protocollo QIASymphony RGQ: impostazioni per eseguire *artus* QS-RGQ Kit

(software Rotor-Gene Q 2.1 o versione successiva)

pagin

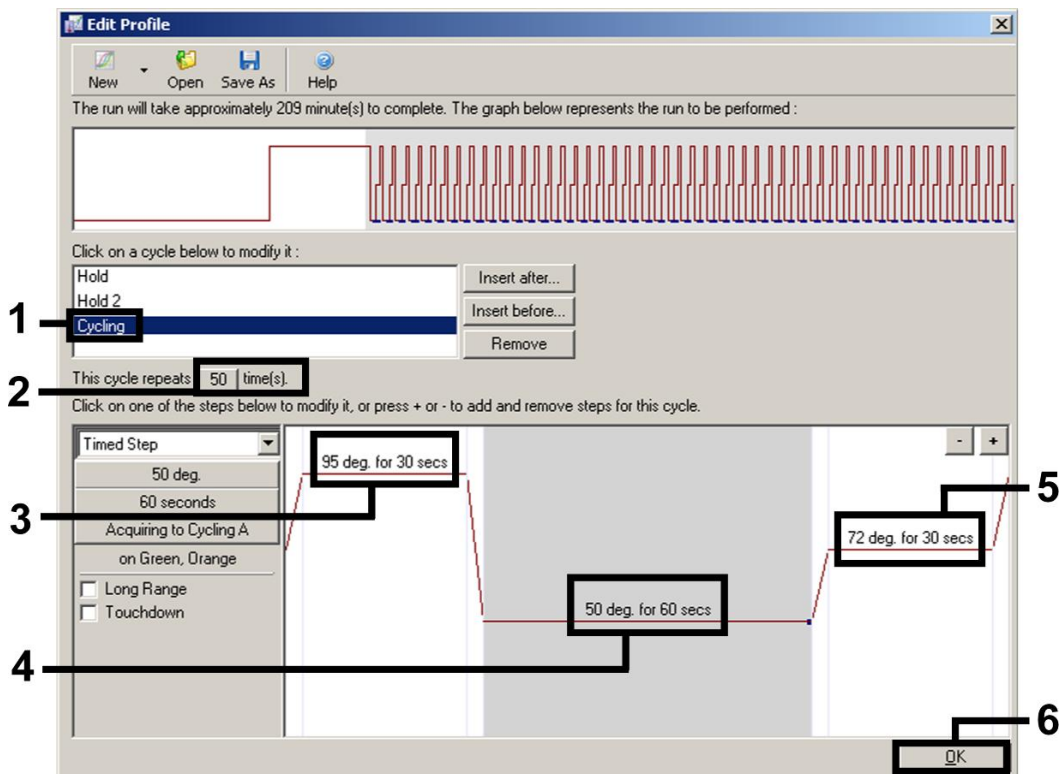


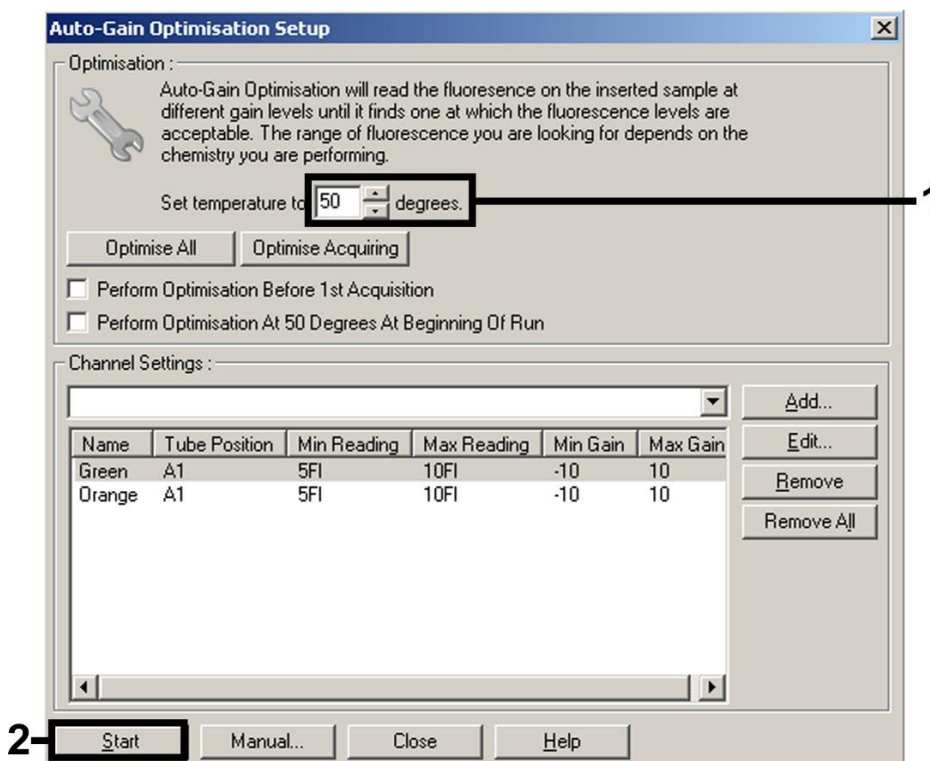
Figura 6. Amplificazione del DNA. Schermata relativa all'*artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit illustrata a titolo d'esempio. Nota: questa fase può differire per altri *artus* QS-RGQ Kit. Vedere la Tabella 1 per le informazioni specifiche riguardanti ciascun *artus* QS-RGQ Kit.

6. Il range di rilevamento dei canali di fluorescenza deve essere determinato in base all'intensità della fluorescenza nelle provette per PCR. Cliccare "Gain Optimisation" (Ottimizzazione guadagno) nella finestra "New Run Wizard" (Procedura guidata nuovo processo) (vedere Figura 3) per aprire la finestra di dialogo "Auto-Gain Optimisation Setup" (Impostazione ottimizzazione automatica guadagno). Impostare la temperatura di calibrazione in modo che corrisponda alla temperatura di annealing del programma di amplificazione e regolare la sensibilità dei canali di fluorescenza (Tabella 2 e schermata a titolo d'esempio nella Figura 7).

Tabella 2. Impostazioni "Auto-Gain Optimisation" (Ottimizzazione automatica guadagno) per i *artus* QS-RGQ Kit

<i>artus</i> QS-RGQ Kit	Virus VZV	BK,	CMV, EBV	HBV	HCV, HIV-1	HSV-1/2
Temperatura	65 gradi		65 gradi	55 gradi	50 gradi	65 gradi
Impostazioni dei canali	Green Orange (Verde, arancione)		Green Yellow (Verde, giallo)	Green Yellow (Verde, giallo)	Green Orange (Verde, arancione)	Green Orange Yellow (Verde, arancione, giallo)

Nota: consultare la corrispondente Scheda di applicazione disponibile all'indirizzo www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.



Scheda del protocollo QIASymphony RGQ: impostazioni per eseguire *artus* QS-RGQ Kit
(software Rotor-Gene Q 2.1 o versione successiva)

Figura 7. Regolazione della sensibilità del canale di fluorescenza. Schermata relativa all'artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit illustrata a titolo d'esempio. Nota: questa fase può differire per altri artus QS-RGQ Kit. Vedere la Tabella 2 per le informazioni specifiche riguardanti ciascun artus QS-RGQ Kit.

7. I valori del guadagno determinati con la calibrazione dei canali sono salvati automaticamente e sono elencati nell'ultima finestra del menu della procedura di programmazione (Figura 8). Cliccare su "Start Run" (Avvio processo).

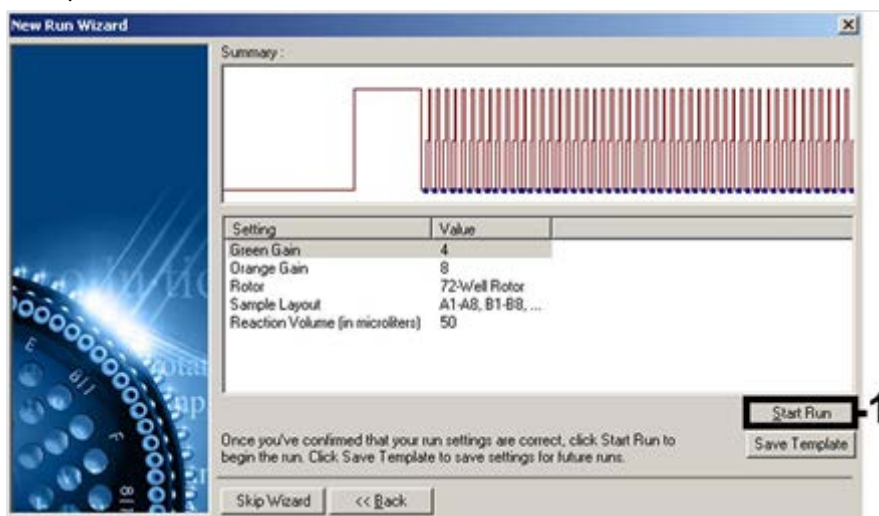



Figura 8. Avvio della seduta. Schermata relativa all'artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit illustrata a titolo d'esempio.

8. Dopo aver avviato l'analisi, importare i dati dal file del termociclatore cliccando sul pulsante  ("Open" (Apri)) o modificare i campioni manualmente.
9. Per l'interpretazione dei risultati consultare il manuale utente dello strumento e la corrispondente Scheda di applicazione del QIASymphony RGQ disponibile all'indirizzo www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.

Scheda del protocollo QIASymphony RGQ: impostazioni per eseguire artus QS-RGQ Kit

(software Rotor-Gene Q 2.1 o versione successiva)

pagin

Scheda del protocollo QIASymphony RGQ: impostazioni per eseguire *artus* QS-
RGQ Kit
(software Rotor-Gene Q 2.1 o versione successiva)

pagin

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per le clausole di esclusione della responsabilità per i singoli prodotti, consultare il manuale del kit QIAGEN specifico o il manuale utente. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili sul sito www.qiagen.com oppure possono essere richiesti al servizio di assistenza QIAGEN o al distributore locale.

Marchi commerciali: QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (Gruppo QIAGEN).

Gennaio 14 HB-0371-S02-003 © 2013–2014 QIAGEN, tutti i diritti riservati.



Sample & Assay Technologies

www.qiagen.com

Australia # 1-800-243-800

Austria # 0800-281011

Belgium # 0800-79612

Brazil # 0800-557779

Canada # 800-572-9613

China # 800-988-0325

Denmark # 80-885945

Finland # 0800-914416

France # 01-60-920-930

Germany # 02103-29-12000

Hong Kong # 800 933 965

India # 1-800-102-4114

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

UK # 0808-2343665

USA # 800-426-8157



Sample & Assay Technologies