

















Fiche de protocole du QIASymphony[®] RGQ

Configuration pour l'utilisation des kits *artus*[®] QS-RGQ (logiciel Rotor-Gene[®] Q version 2.1 ou supérieure)

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

Gestion des versions

Ce document est la fiche de protocole du QIASymphony RGQ, version 1, R3.



Vérifiez la disponibilité de nouvelles révisions des notices électroniques à l'adresse www.qiagen.com avant d'effectuer un test.

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.
- Consulter également le manuel et la fiche d'application spécifiques au kit *artus* QS-RGQ à l'adresse www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.
- S'assurer que chaque cycle de PCR comprenne tous les étalons de quantification et au moins un témoin négatif (eau de qualité PCR). Pour produire une courbe étalon, utiliser tous les étalons de quantification fournis.

Janvier 2014



Sample & Assay Technologies

Procédure

1. Placer les tubes de PCR dans le rotor de 72 puits du Rotor-Gene Q. Verrouiller le rotor à l'aide de l'anneau de blocage.
2. Transférer le fichier du cycleur du QIASymphony AS vers l'ordinateur du Rotor-Gene Q.
3. Ouvrir la boîte de dialogue « New Run Wizard » (Assistant de réalisation d'un nouveau cycle) (figure 1). Cocher la case « Locking Ring Attached » (Anneau de blocage posé) et cliquer sur « Next » (Suivant).

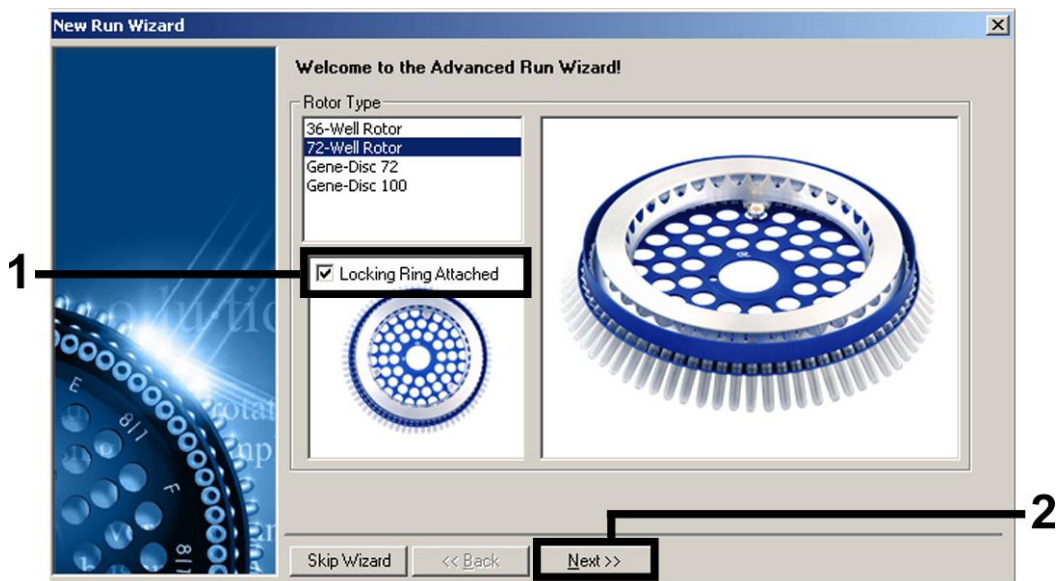


Figure 1. Boîte de dialogue « New Run Wizard ».

4. Sélectionner 50 pour le volume de réaction de la PCR et cliquer sur « Next » (figure 2).

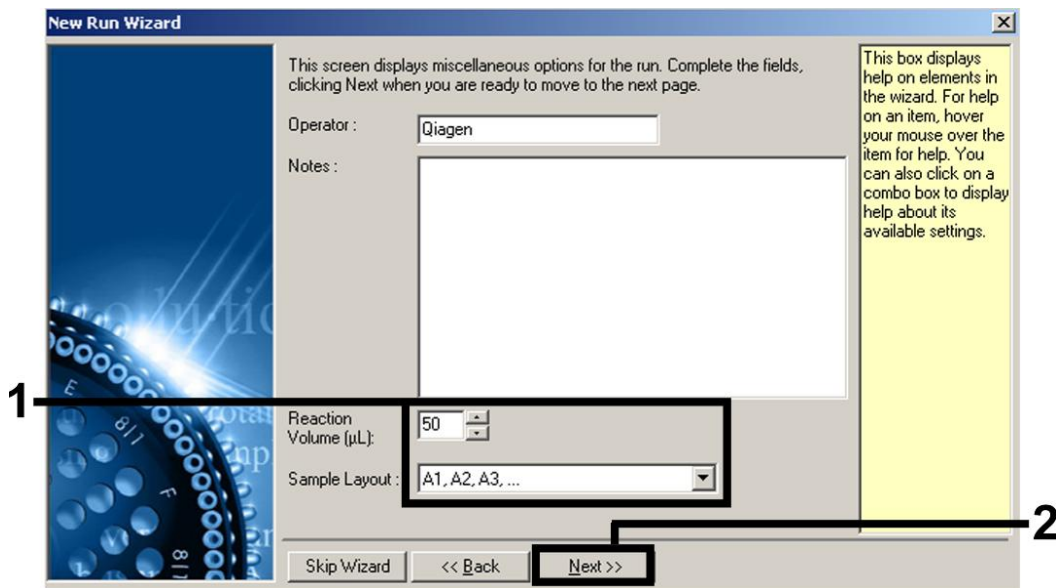


Figure 2. Définition des paramètres généraux d'analyse. Remarque : Même si le volume de réaction physique n'est pas de 50 μ l, veuillez à sélectionner la valeur 50 dans le logiciel Rotor-Gene pour le volume réactionnel.

5. Cliquer sur le bouton « Edit Profile » (Modifier le profil) dans la boîte de dialogue « New Run Wizard » (figure 3). Programmer le profil de température approprié pour le kit *artus* QS-RGQ pertinent, comme montré dans le tableau 1, en utilisant comme guide les exemples de captures d'écran présentés dans les figures 3–6 (des captures d'écran relatives au kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ sont présentées comme exemples).

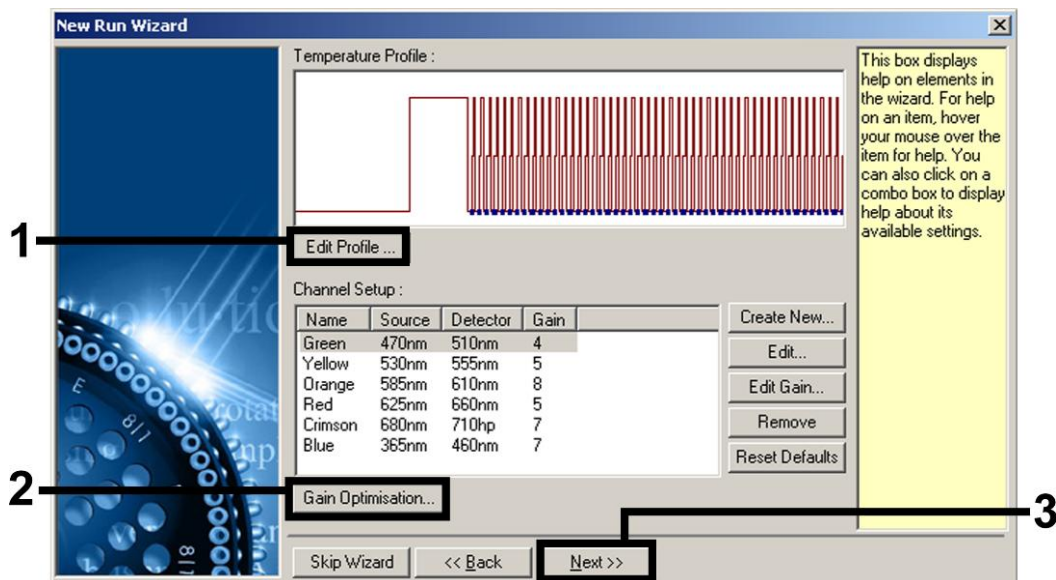


Figure 3. Modification du profil. La capture d'écran relative au kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ est présentée comme exemple.

Tableau 1. Profils de température pour les kits *artus* QS-RGQ

artus QS-RGQ Kit	Virus BK, CMV, EBV, HSV-1/2, VZV	VHB	VHC, VIH-1 (HI Virus-1)
Plateau	Température : 95 deg. Durée : 10 min	Température : 95 deg. Durée : 10 min	Température : 50 deg. Durée : 30 min
Plateau 2	Étape non requise	Étape non requise	Température : 95 deg. Durée : 15 min
Cycles	45 cycles 95 deg. pendant 15 s 65 deg. pendant 30 s 72 deg. pendant 20 s S'assurer d'activer la fonction touchdown (touché) pendant 10 cycles au cours de l'étape d'hybridation.	45 cycles 95 deg. pendant 15 s 55 deg. pendant 30 s 72 deg. pendant 15 s	50 cycles 95 deg. pendant 30 s 50 deg. pendant 60 s 72 deg. pendant 30 s

Remarque : Consulter également la fiche d'application spécifique au QIASymphony RGQ à l'adresse www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.

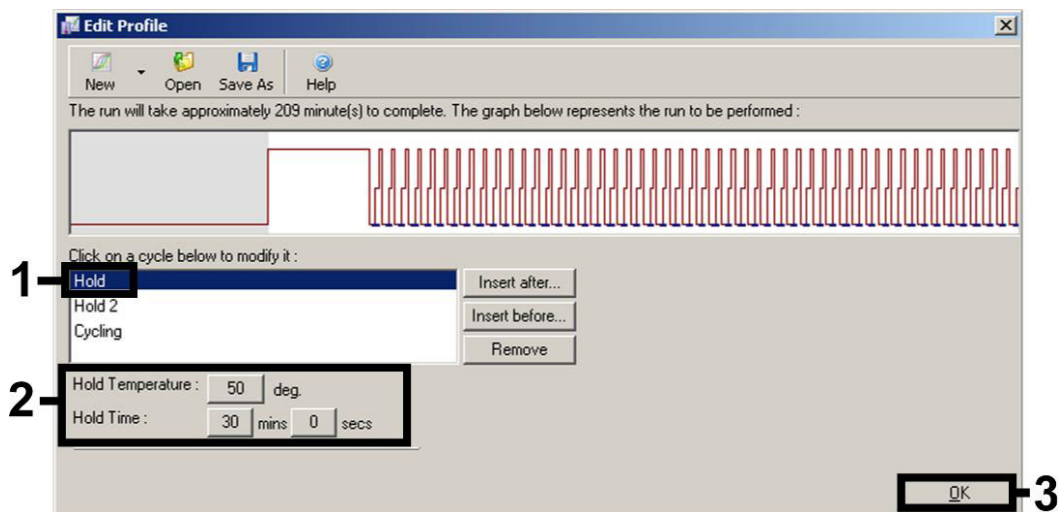


Figure 4. Transcription inverse de l'ARN. La capture d'écran relative au kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ est présentée comme exemple. **Remarque :** Cette étape peut être différente pour les autres

kits *artus* QS-RGQ. Consulter le tableau 1 pour des informations spécifiques à chaque kit *artus* QS-RGQ.

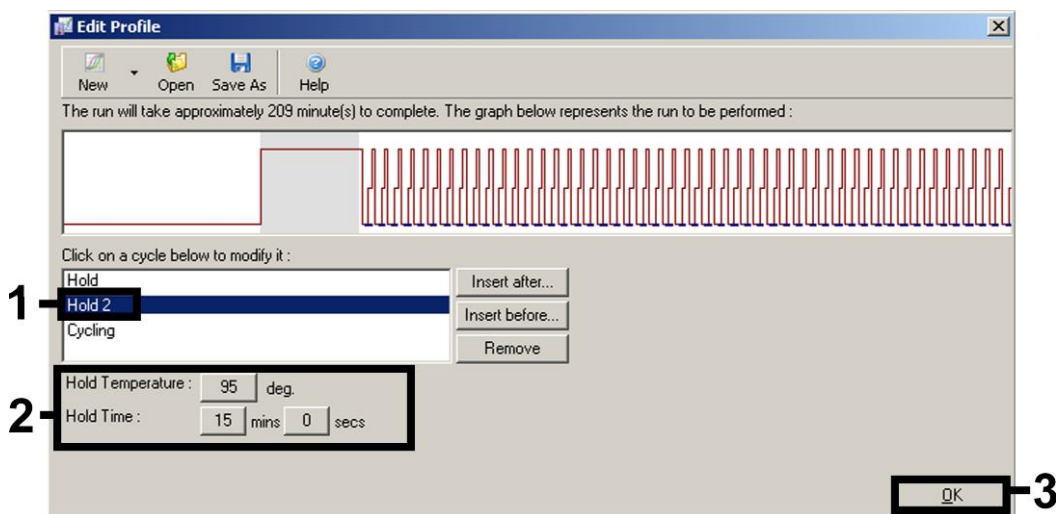


Figure 5. Activation initiale de l'enzyme à démarrage à chaud (hot-start) La capture d'écran relative au kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ est présentée comme exemple. **Remarque** : Cette étape peut être différente pour les autres kits *artus* QS-RGQ. Consulter le tableau 1 pour des informations spécifiques à chaque kit *artus* QS-RGQ.

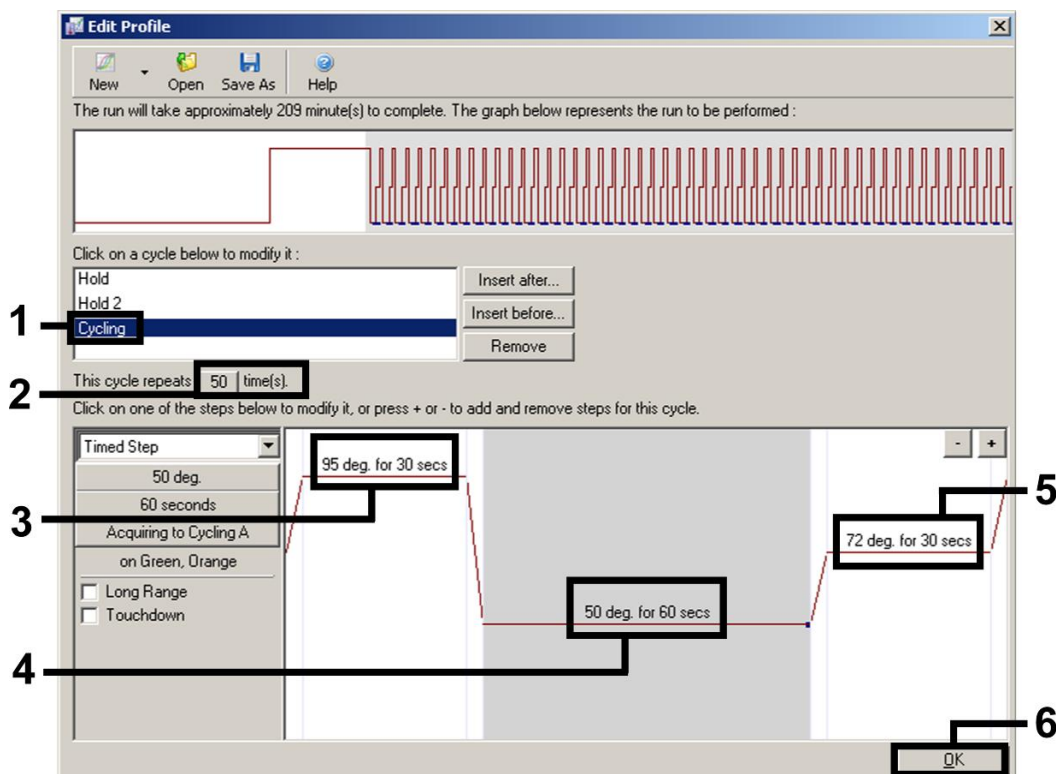


Figure 6. Amplification de l'ADN. La capture d'écran relative au kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ est présentée comme exemple. **Remarque** : Cette étape peut être différente pour les autres kits *artus* QS-RGQ. Consulter le tableau 1 pour des informations spécifiques à chaque kit *artus* QS-RGQ.

6. 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) pour ouvrir la boîte de dialogue « Auto-Gain Optimisation Setup » (Configuration de l'optimisation du gain automatique). Régler la température de calibration pour qu'elle corresponde à la température d'hybridation du programme d'amplification, puis ajuster les sensibilités des canaux de fluorescence (tableau 2 et capture d'écran présentée comme exemple dans la figure 7).

Tableau 2. Configuration de la fonction « Auto-Gain Optimisation » pour les kits *artus* QS-RGQ

Kit <i>artus</i> QS-RGQ	Virus BK, VZV	CMV, EBV	VHB	VHC, VIH-1 (HI Virus-1)	HSV-1/2
Température	65 degrés	65 degrés	55 degrés	50 degrés	65 degrés
Réglages des canaux	Green Orange	Green Yellow	Green Yellow	Green Orange	Green Orange Yellow

Remarque : Consulter également la fiche d'application spécifique au QIASymphony RGQ à l'adresse www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.

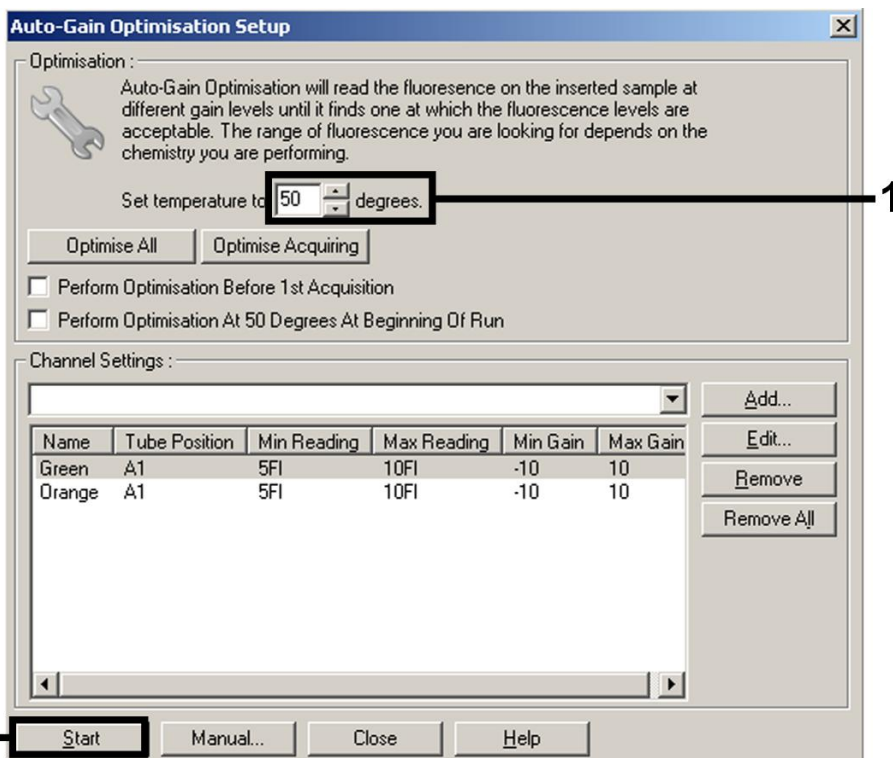


Figure 7. Ajustement de la sensibilité des canaux de fluorescence. La capture d'écran relative au kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ est présentée comme exemple. **Remarque** : Cette étape peut être différente pour les autres kits *artus* QS-RGQ. Consulter le tableau 2 pour des informations spécifiques à chaque kit *artus* QS-RGQ.

7. Les valeurs de gain déterminées par le calibrage des canaux sont automatiquement enregistrées et répertoriées dans la dernière fenêtre de menu de la procédure de programmation (figure 8). Cliquer sur « Start Run » (Démarrer le cycle).

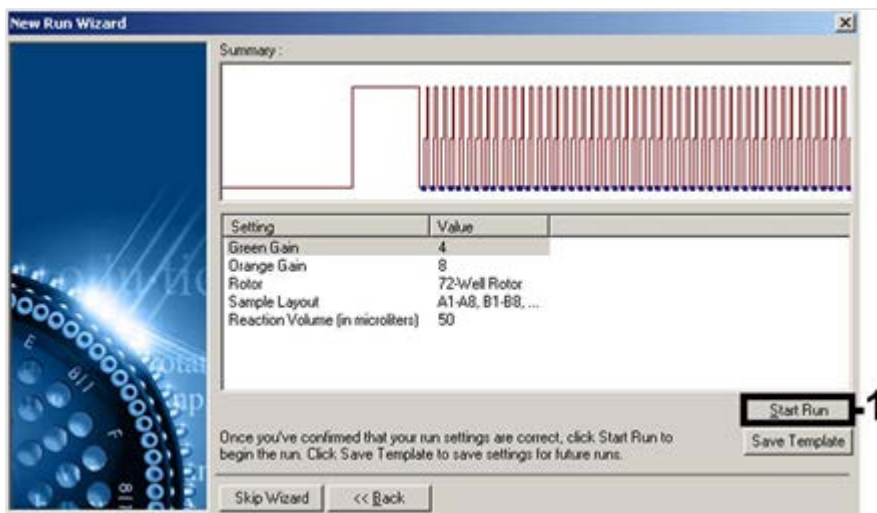



Figure 8. Démarrage du cycle. La capture d'écran relative au kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ est présentée comme exemple.

8. Après avoir démarré le cycle, importer les informations à partir du fichier du cycleur en cliquant sur le bouton  (« Open » [Ouvrir]) ou modifier les échantillons manuellement.
9. Pour l'interprétation des résultats, consulter le manuel d'utilisation de l'appareil et la fiche d'application spécifique au QIASymphony RGQ à l'adresse www.qiagen.com/products/qiasymphonyraq.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® (QIAGEN Group).

Jan-14 HB-0371-S02-003 © 2013–2014 QIAGEN, tous droits réservés.

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