

Scheda del Protocollo QIASymphony® RGQ

Impostazioni per eseguire il kit *artus*® CT/NG QS-RGQ (software Rotor-Gene® Q 2.1)



Prima di eseguire il test verificare la disponibilità di nuove revisioni delle etichette elettroniche nel sito www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgqkitce. Lo stato della revisione è indicato dalla data di rilascio (formato: mese/anno).

Informazioni generali



artus CT/NG QS-RGQ Kit

Versione 1, **REF** 4569365

Punti importanti prima di iniziare

- Prendersi il tempo necessario per familiarizzare con il Rotor-Gene Q prima di avviare il protocollo. Fare riferimento al manuale utente dello strumento.
- Consultare anche il Manuale del kit *artus* CT/NG QS-RGQ (*CT/NG QS-RGQ Kit Handbook*) e la corrispondente Scheda di Applicazione disponibile all'indirizzo www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgqkitce.aspx.
- Accertarsi che in ogni analisi PCR vengano inclusi i controlli positivi/negativi e almeno un controllo negativo (NTC, inserito nel kit e dispensato dal modulo AS). Il kit *artus* CT/NG QS-RGQ è un test per la rilevazione qualitativa, quindi non vengono forniti standard di quantificazione.

Procedura

1. **Collocare le provette per PCR nel rotore a 72 pozzetti del Rotor-Gene Q.**
2. **Collocare le provette per PCR vuote con coperchio nelle posizioni vuote del rotore.**
Ciò garantisce una distribuzione ottimale del calore nel Rotor-Gene Q.
3. **Bloccare il rotore con l'apposito anello di bloccaggio.**
4. **Trasferire il file del termociclatore dal QIASymphony AS al computer del Rotor-Gene Q.**

Giugno 2013



Sample & Assay Technologies

5. Aprire la finestra di dialogo "New Run Wizard" (Wizard nuovo processo) (Figura 1). Spuntare la casella "Locking Ring Attached" (Anello di bloccaggio applicato) e cliccare su "Next" (Avanti).

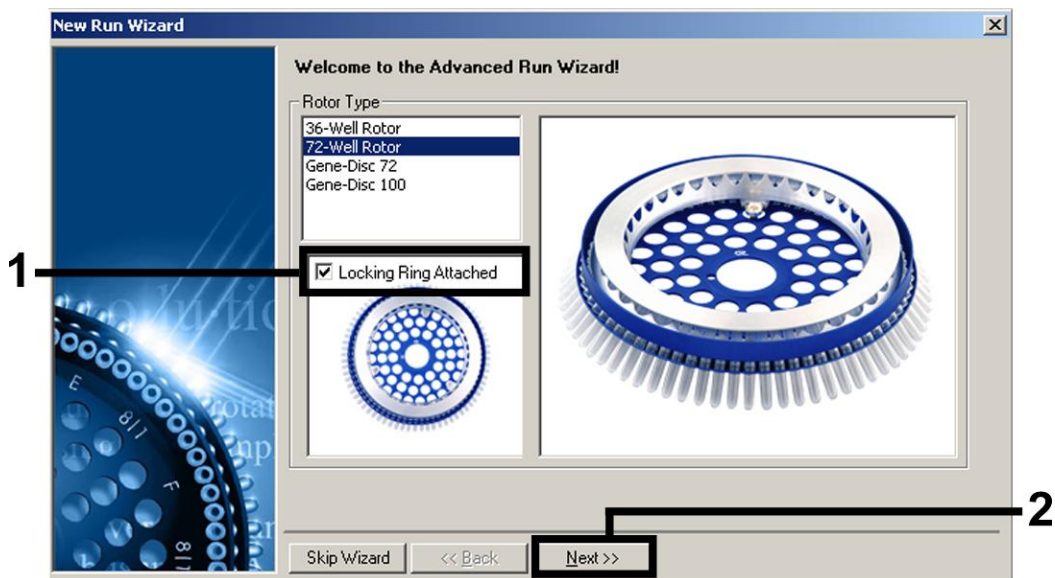


Figura 1. La finestra di dialogo "New Run Wizard".

6. Selezionare 25 per il volume di reazione PCR e cliccare su "Next" (Figura 2).

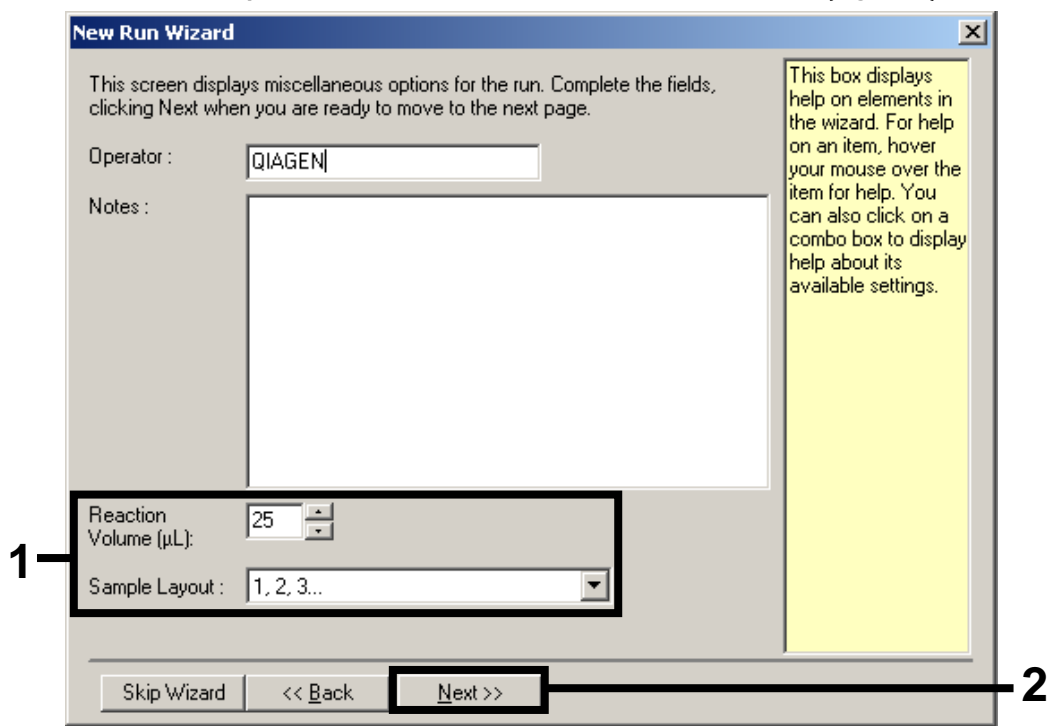


Figura 2. Impostazione dei parametri generali del test.

7. Cliccare sul pulsante "Edit Profile" (Modifica profilo) nella successiva finestra di dialogo "New Run Wizard" (Figura 3). Programmare il profilo termico come indicato nella Tabella 1, utilizzando come guida le videate illustrate nelle Figure 3-5.

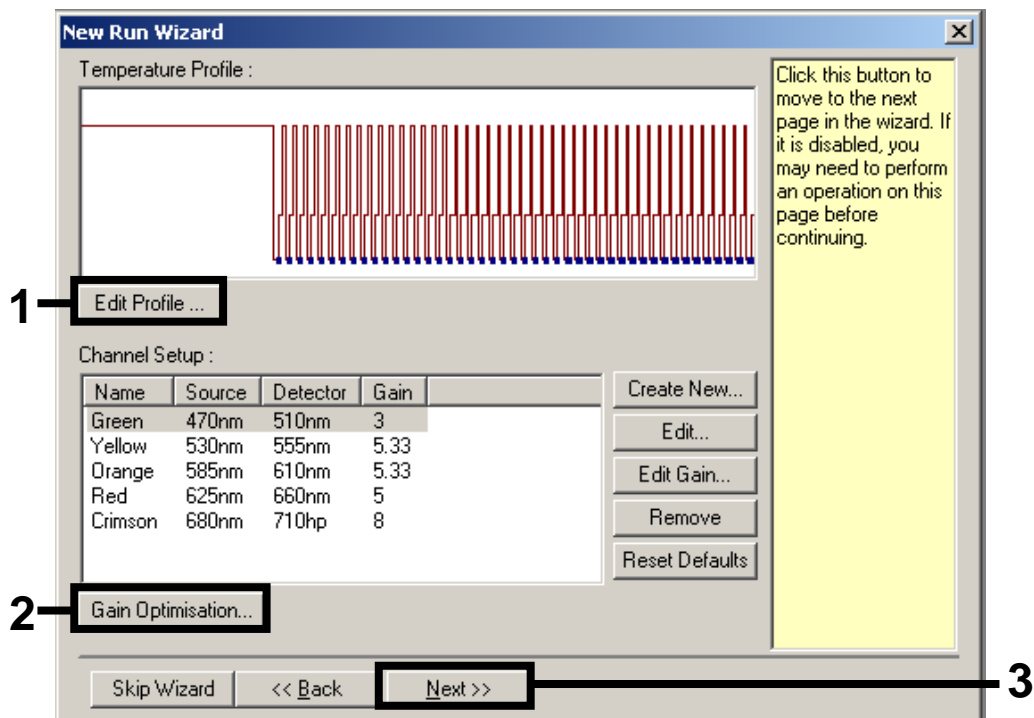


Figura 3. Modifica del profilo.

Tabella 1. Profili termici per il kit *artus* CT/NG QS-RGQ

Mantenimento	Temperatura: 95° Durata: 15 minuti
Mantenimento 2	Fase non richiesta
Ciclizzazione	45 volte 95° per 11 s 60° per 20 s 72° per 20 s

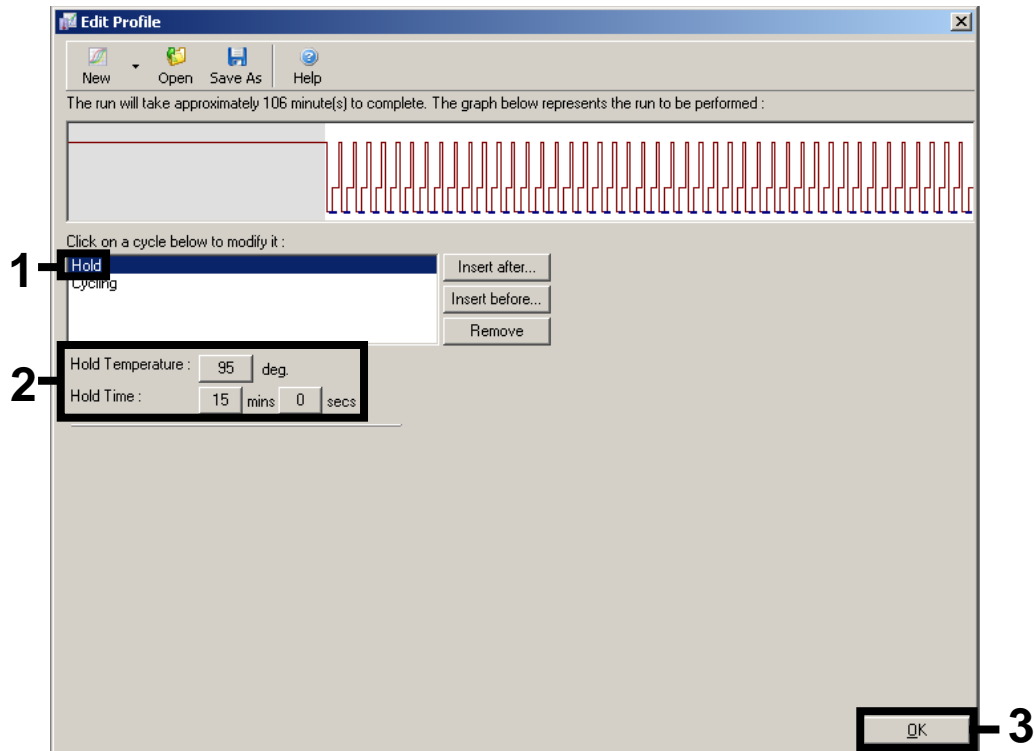


Figura 4. Attivazione iniziale dell'enzima hot-start.

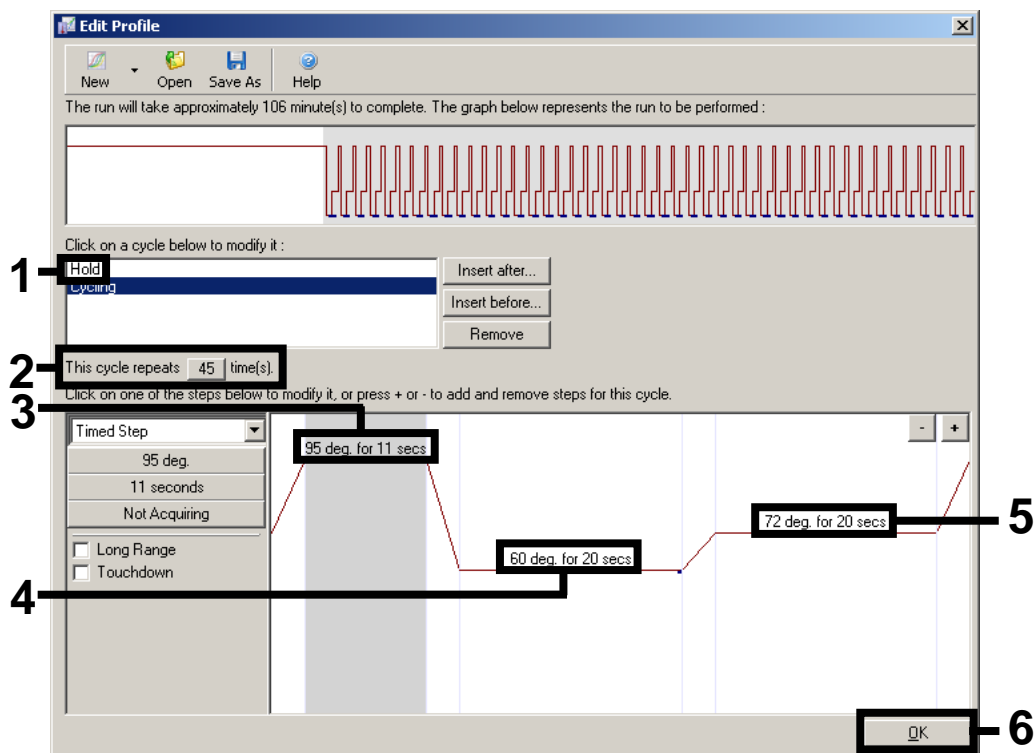


Figura 5. Amplificazione del DNA.

8. Il range di rilevazione dei canali di fluorescenza deve essere determinato in base all'intensità della fluorescenza nelle provette per PCR. Cliccare su "Gain Optimisation" (Ottimizzazione gain) nella finestra di dialogo "New Run Wizard" (vedere Figura 3, pag. 3) per aprire la finestra di dialogo "Auto-Gain Optimisation Setup" (Setup ottimizzazione auto-gain). Impostare la temperatura di calibrazione su 60 per farla coincidere con la temperatura di annealing del programma di amplificazione (Figura 6).

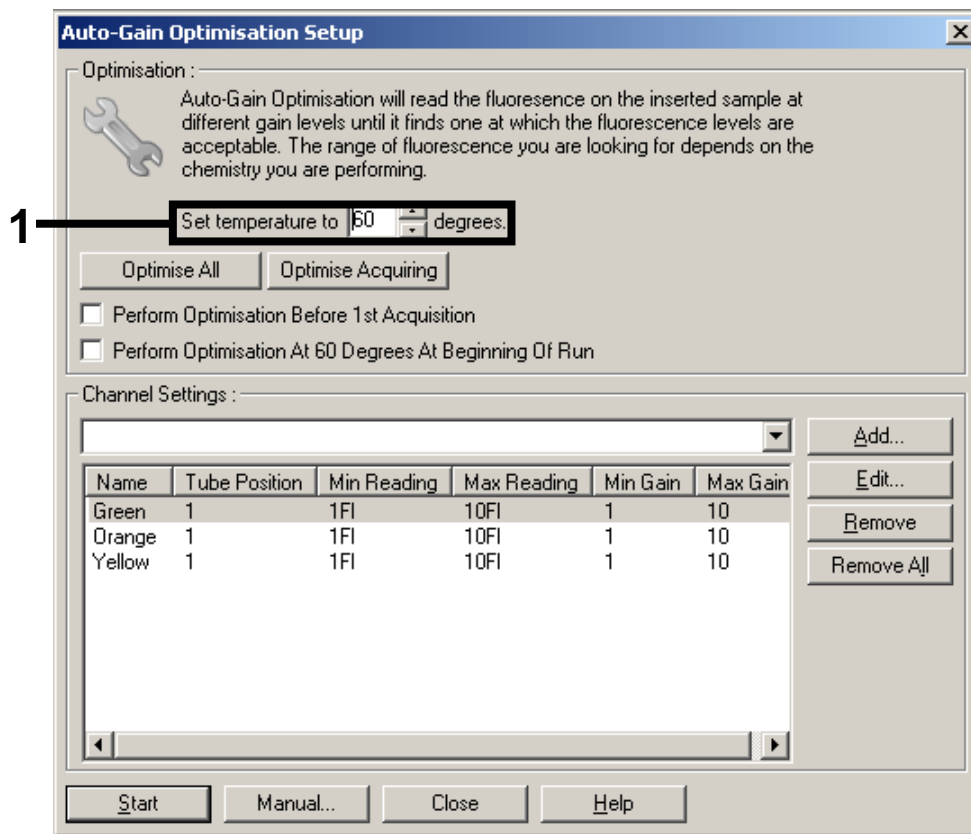


Figura 6. Regolazione della sensibilità del canale di fluorescenza.

9. Regolare l'ottimizzazione del gain. Selezionare un "Target Sample Range" (Range del campione target) da 1 FI a 10 FI e un "Acceptable Gain Range" (Range di gain accettabile) da 1 a 10 (Figura 7, esempio per il canale Green (Verde)). Queste regolazioni sono necessarie per ogni canale (Green, Yellow (Giallo) e Orange (Arancione)).

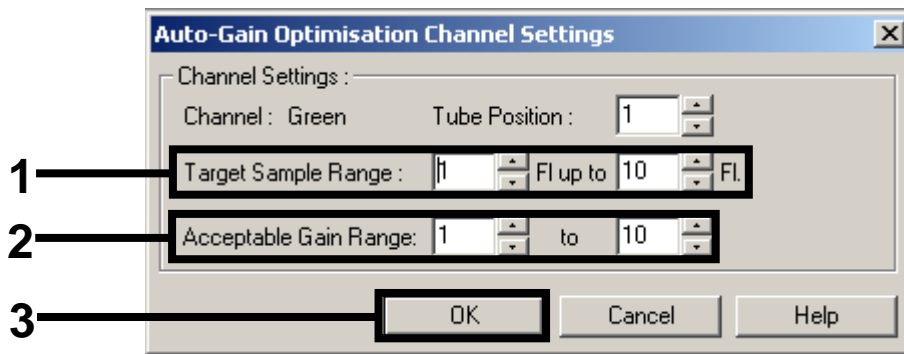


Figura 7. Regolazione dell'ottimizzazione del gain per il canale Green. Queste regolazioni sono necessarie per ogni canale (Green, Yellow e Orange).

10. Cliccare sul pulsante "Start" (Avvia) per avviare l'ottimizzazione del gain. Terminata l'ottimizzazione del gain, cliccare su "Close" (Chiudi) per tornare al wizard del processo (Figura 8).

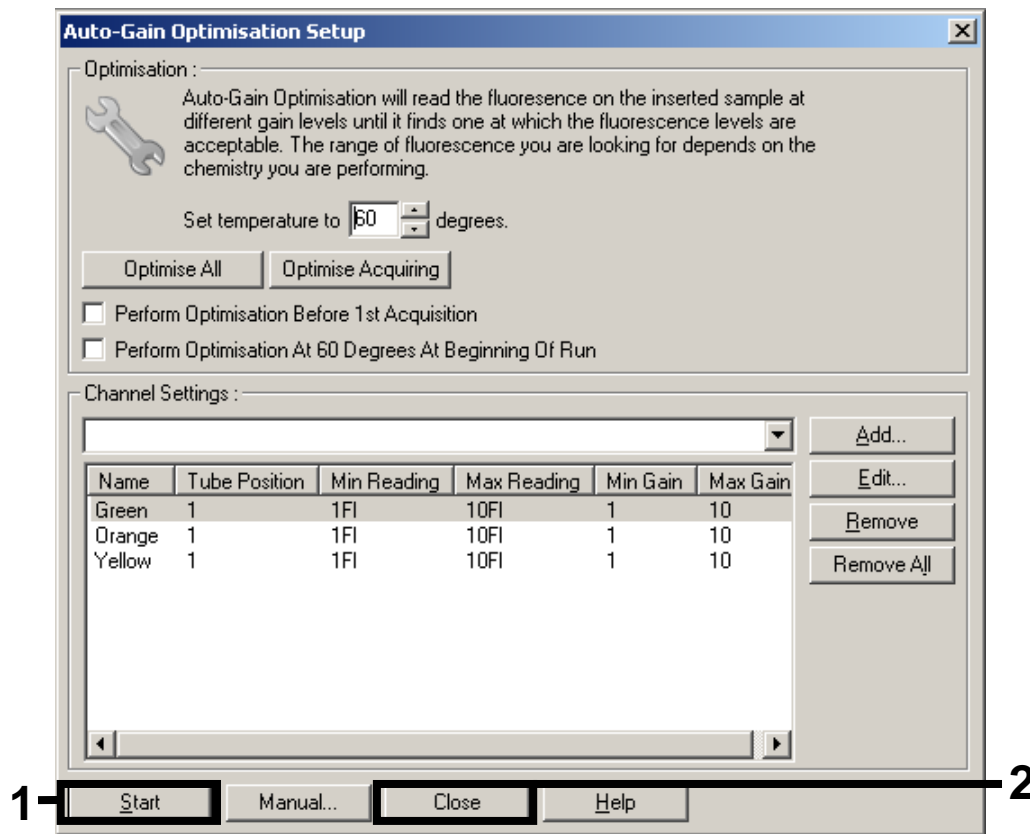


Figura 8. Ottimizzazione del gain.

11. I valori del gain determinati con la calibrazione del canale sono salvati automaticamente e sono elencati nell'ultima finestra del menu della procedura di programmazione (Figura 9). Cliccare su "Start Run" (Avvio processo).

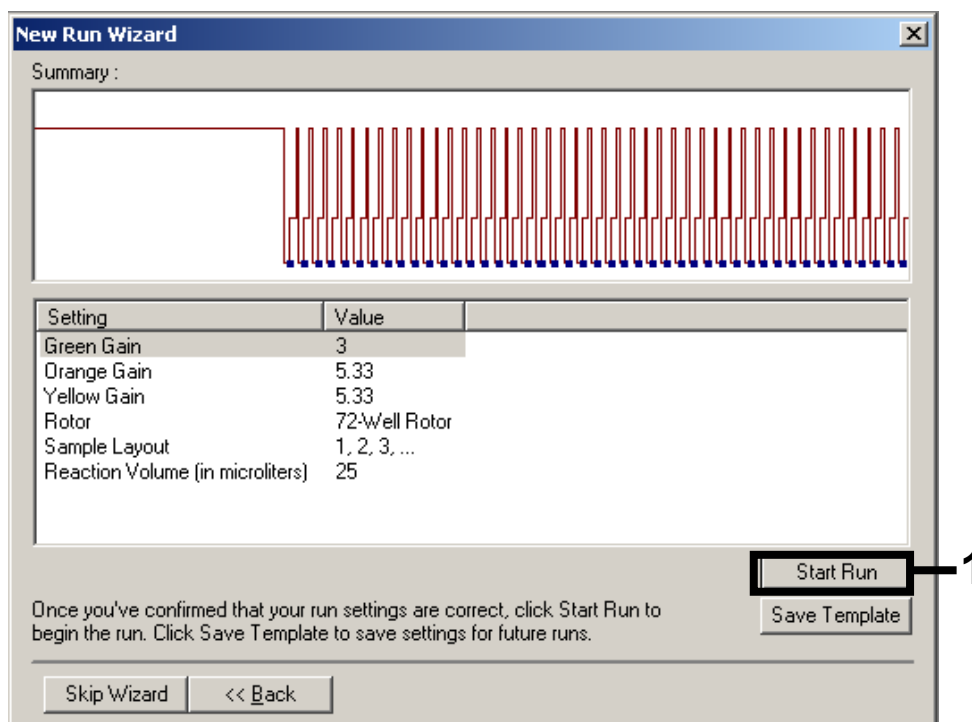



Figura 9. Avvio del processo.

12. Dopo aver avviato il processo, importare i dati dal file del termociclatore cliccando sul pulsante  ("Open" [Apri]) o modificare i campioni manualmente.
13. 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/artusctnqqsrgqkitce.aspx.

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per i disclaimer specifici dei prodotti consultare il rispettivo manuale del kit o manuale utente QIAGEN. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili nel sito www.qiagen.com oppure possono essere richiesti al servizio di assistenza tecnica QIAGEN o al proprio distributore locale.

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

© 2013 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

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

