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



Kontrollieren Sie, ob unter <u>www.qiagen.com/products/artusctngqsrgqkitce.aspx</u> 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 <u>www.qiagen.com/products/</u> <u>artusctnggsrggkitce.aspx</u> 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.
- 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.



Sample & Assay Technologies

Juni 2013

 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".

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

New Run Wiza This screen di	rd plays miscellaneous options for the run. Complete the fields,	This box displays
clicking Next v Operator : Notes :	Pen you are ready to move to the next page.	help on elements in the wizard. For help on an item, hover your mouse over the item for help. You can also click on a combo box to display help about its available settings.
Reaction Volume (μL):	25	
Sample Layou	: 1, 2, 3	
Skip Wiza	d << <u>B</u> ack <u>N</u> ext >>	

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

 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.	Temperaturprofi	l 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

R Edit Profile	<u>×</u>
The run will take approximately 106 minute(s) to complete. The graph below represents the run to be pa	erformed :
Click on a cycle below to modify it : Hold Lycting Berrove Berrove	
Hold Temperature : 95 deg. Hold Time : 15 mins 0 secs	
	<u>о</u> к

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).

2/2	on : Auto-Gain different ga acceptable chemistry y	Optimisation will i ain levels until it fi e. The range of fl you are performin	ead the fluorese nds one at which uorescence you g.	nce on the in: h the fluoresc are looking fo	serted sample a ence levels are r depends on th	t
	Set temper	rature to 60	degrees.			
Optim	iise All	Optimise Acquir	ing			
Perfor	n Optimisatio	on Before 1st Acc	juisition			
Perfor	n Optimisatio	on At 60 Degrees	At Beginning Of	Run		
Channel 9	ottinge					
channel 3	earings					
					•	<u>A</u> dd
Name	Tube Posi	ition Min Read	ing Max Read	ing Min Ga	in 🛛 Max Gain	<u>E</u> dit
Green	1	1FI	10FI	1	10	Remove
Orange	1	1FI	10FI	1	10	
Tellow	I	IFI	TUFI	1	10	Remove A
						l

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.

	Auto-Gain Optimisation Channel Settings	×
	Channel Settings : Channel : Green Tube Position : 1	
1	Target Sample Range : 1 🕂 Fl up to 10 🕂 Fl.	
2——	Acceptable Gain Range: 1 📩 to 10 🛨	
3——	OK Cancel Help	

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

 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).

Auto-Gain	Optimisation 9	ietup				×
- Optimisatir	on :					
Sel 2	Auto-Gain Optir different gain le acceptable. Th chemistry you a	nisation will read vels until it finds e range of fluore re performing.	the fluoresence one at which the scence you are l	on the insert fluorescenc looking for de	ed sample al e levels are epends on th	ie
	Set temperature	: to 60 🛨 de	egrees.			
Optim	ise All Opt	imise Acquiring				
Perfor	n Optimisation Be	fore 1st Acquisit	ion			
Perform	n Optimisation At	60 Degrees At B	eginning Of Rur	n		
– Channel S	iettings :					
	-				_	ЬЧЧ
<u> </u>	1	/	1			
Name	Tube Position	Min Reading	Max Reading	Min Gain	Max Gain	<u> </u>
Green	1	1FI	10FI	1	10	Bemove
Orange	1	1FI	10FI	1	10	
Yellow	1	111	10FI	1	10	Remove All

Abbildung 8. Verstärkungsoptimierung.

 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").

New Run Wizard			×
Summary :			
Setting	Value	[
Green Gain	3		
Orange Gain	5.33		
Yellow Gain	5.33		
Rotor	72-Well Rotor		
Sample Layout	1, 2, 3,		
neaction volume (in microliters)	20		
			Start Run
Once you've confirmed that your re begin the run. Click Save Templat	un settings are co e to save setting:	orrect, click Start Run to s for future runs.	Save Template
Skip Wizard << <u>B</u> ack			

Abbildung 9. Starten des Laufs.

- 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.
- Informationen zur Interpretation der Ergebnisse finden Sie im Geräte-Handbuch und im entsprechenden QIAsymphony RGQ Applikationsblatt, das unter <u>www.qiagen.com/products/artusctnggsrggkitce.aspx</u> verfügbar ist.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Anwendungseinschränkungen finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit- oder Geräte-Handbuch. QIAGEN Kit- und Geräte-Handbücher stehen unter <u>www.qiagen.com</u> 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	\mathbf{OO}
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	GIA

Sample & Assay Technologies

GEN