

QIASymphony® RGQ Protokollblatt

Einstellungen für *artus*® QS-RGQ Kits (Rotor-Gene® Q Software 2.1, oder höher)

	<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

Angaben zur Version

Das vorliegende Dokument QIASymphony RGQ Protokollblatt ist die Version 1, R3.



Prüfen Sie vor einer Testausführung die Verfügbarkeit neuer elektronischer Etikettierungsrevisionen im Internet unter www.qiagen.com.

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Machen Sie sich vor Beginn des Protokolls mit dem Rotor-Gene Q vertraut. Lesen Sie das Benutzerhandbuch des Geräts.
- Siehe auch entsprechendes *artus* QS-RGQ Kit Handbuch und Anwendungsblatt unter www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.
- Achten Sie darauf, dass in jedem PCR-Lauf alle 4 Quantifizierungsstandards und mindestens eine Negativkontrolle (Wasser, PCR-Qualität) mitgeführt werden. Zur Erstellung einer Standardkurve verwenden Sie alle mitgelieferten Quantifizierungsstandards.

Januar 2014



Sample & Assay Technologies

Durchführung

1. Stellen Sie die PCR-Reaktionsgefäße in den 72-Well-Rotor des Rotor-Gene Q. Verschließen Sie den Rotor mit dem Sicherungsring.
2. Übertragen Sie die Cycler-Datei vom QIASymphony AS auf den Rotor-Gene Q Computer.
3. Öffnen Sie das Dialogfenster „New Run Wizard“ (Assistent für neuen Lauf) (Abb. 1). Markieren Sie das Kontrollkästchen „Locking Ring Attached“ (Sicherungsring festgemacht) und klicken Sie dann auf „Next“ (Weiter).

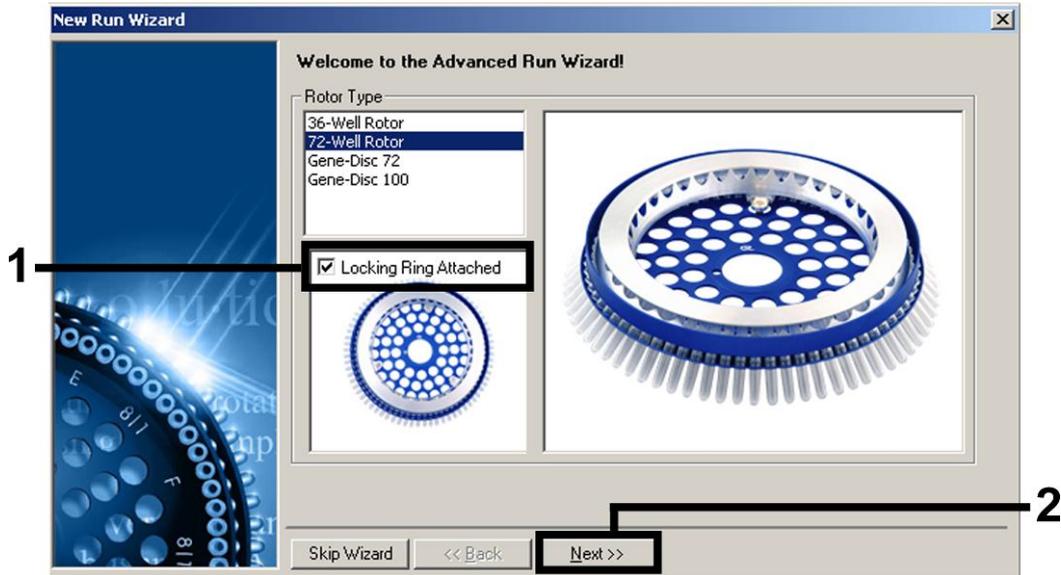


Abbildung 1. Das Dialogfenster „New Run Wizard“.

4. Wählen Sie 50 als Volumen der PCR-Reaktion aus und klicken Sie auf „Next“ (Abb. 2).

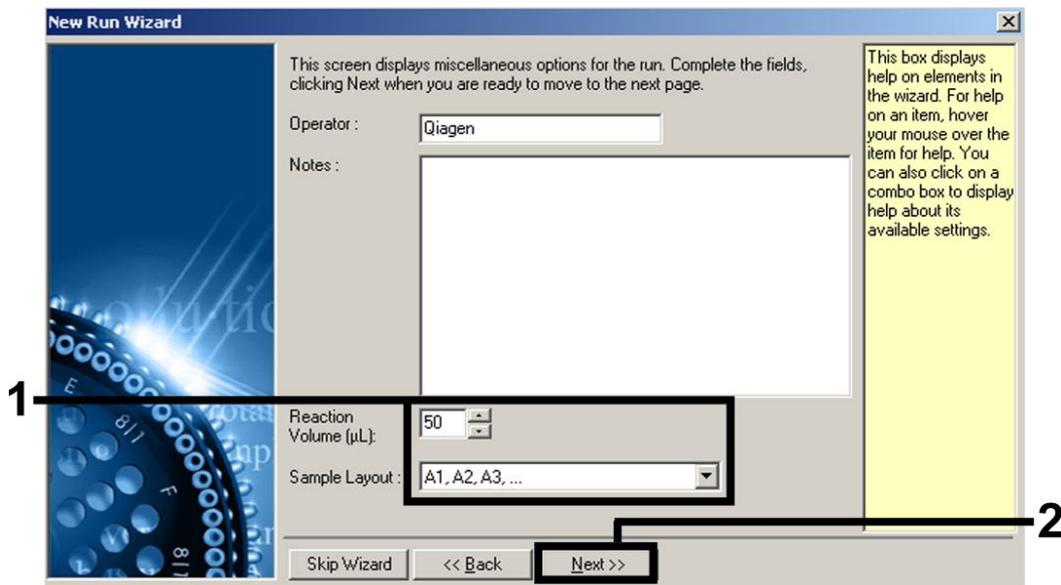


Abbildung 2. Einstellung allgemeiner Parameter Hinweis: Auch wenn das wirkliche Reaktionsvolumen nicht 50 µl beträgt, achten Sie darauf, in der Rotor-Gene-Software 50 als das Reaktionsvolumen auszuwählen.

5. Klicken Sie im nächsten „New Run Wizard“-Dialogfenster (Abb. 3) auf die Schaltfläche „Edit Profile“ (Profil bearbeiten). Programmieren Sie das Temperaturprofil für das entsprechende *artus* QS-RGQ Kit wie in Tabelle 1 gezeigt. Verwenden Sie die beispielhaften Screenshots der Abb. 3–6 als Leitfaden (als Beispiele sind Screenshots für das *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit gezeigt).

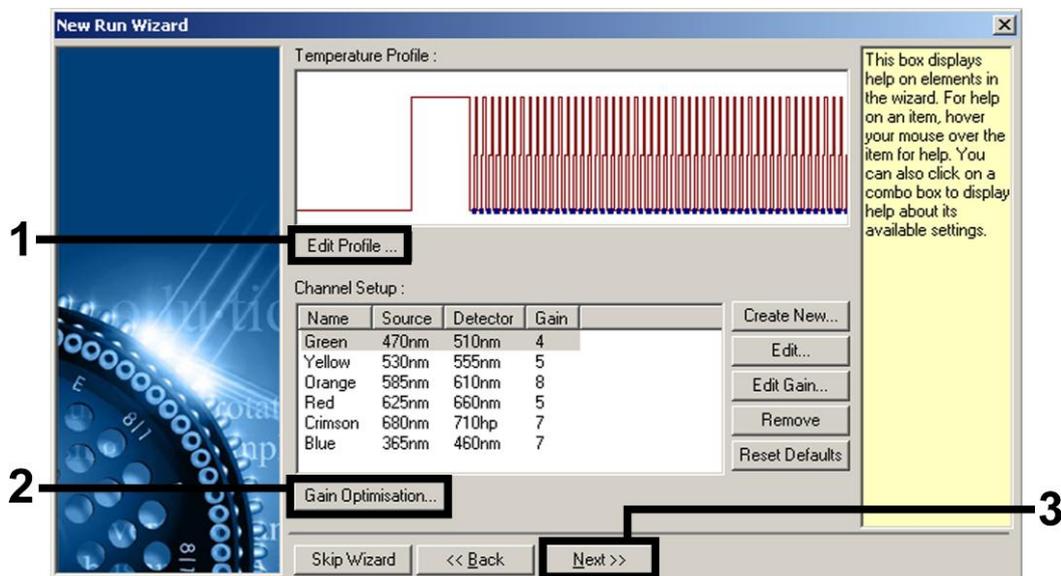


Abbildung 3. Bearbeiten des Profils. Beispielhafter Screenshot für das *artus* HI Virus-1 QS-RGQ.

Tabelle 1. Temperaturprofile für *artus* QS-RGQ Kits

artus QS-RGQ Kit	BK Virus, CMV, EBV, HSV-1/2, VZV	HBV	HCV, HI Virus-1
„Hold“ (Halten)	Temperatur: 95 Grad Dauer: 10 min	Temperatur: 95 Grad Dauer: 10 min	Temperatur: 50 Grad Dauer: 30 min
„Hold 2“ (Halten 2)	„Step not required“ (Schritt nicht erforderlich)	„Step not required“	Temperatur: 95 Grad Dauer: 15 min
„Cycling“ (Zyklen)	45 mal 95 Grad für 15 s 65 Grad für 30 s 72 Grad für 20 s Aktivieren Sie unbedingt die Touchdown-Funktion für 10 Zyklen im Annealing-Schritt.	45 mal 95 Grad für 15 s 55 Grad für 30 s 72 Grad für 15 s	50 mal 95 Grad für 30 s 50 Grad für 60 s 72 Grad für 30 s

Hinweis: Siehe auch entsprechendes QIASymphony RGQ Anwendungsblatt unter www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.

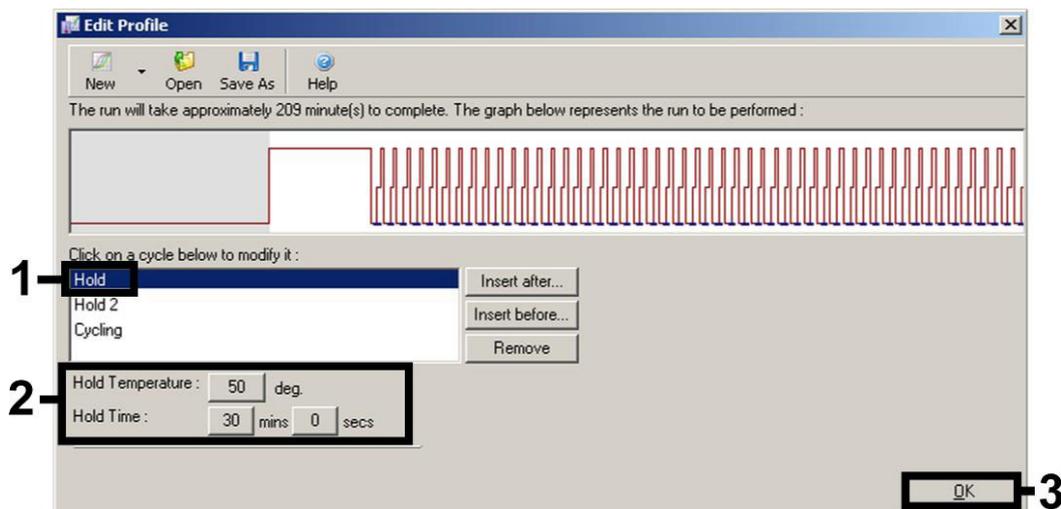


Abbildung 4. Reverse Transkription der RNA. Beispielhafter Screenshot für das *artus* HI Virus-1 QS-RGQ. **Hinweis:** Dieser Schritt kann sich für andere *artus* QS-RGQ Kits unterscheiden. Siehe Tabelle 1 für spezifische Informationen zu dem jeweiligen *artus* QS-RGQ Kit.

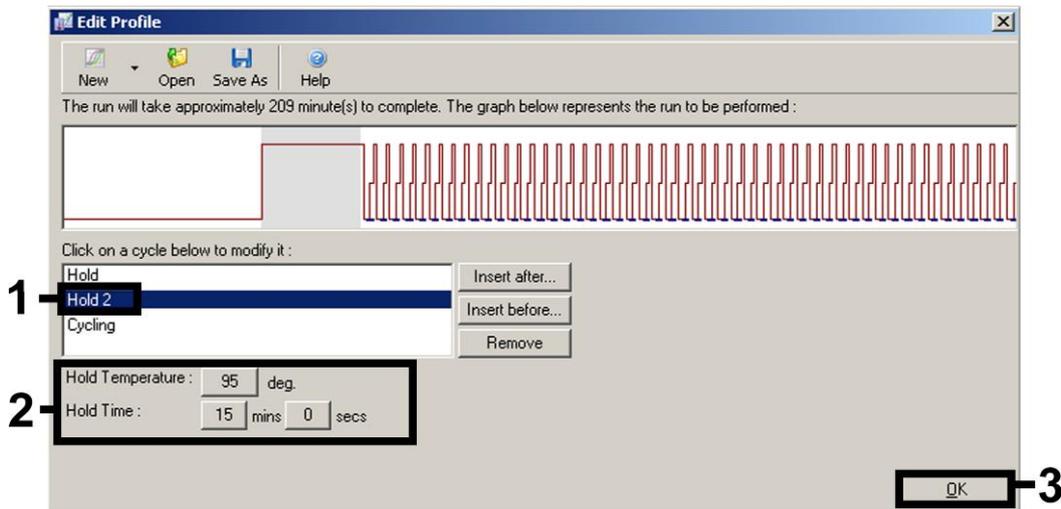


Abbildung 5. Initiale Aktivierung des Hot-Start-Enzyms. Beispielhafter Screenshot für das *artus* HI Virus-1 QS-RGQ. **Hinweis:** Dieser Schritt kann sich für andere *artus* QS-RGQ Kits unterscheiden. Siehe Tabelle 1 für spezifische Informationen zu dem jeweiligen *artus* QS-RGQ Kit.

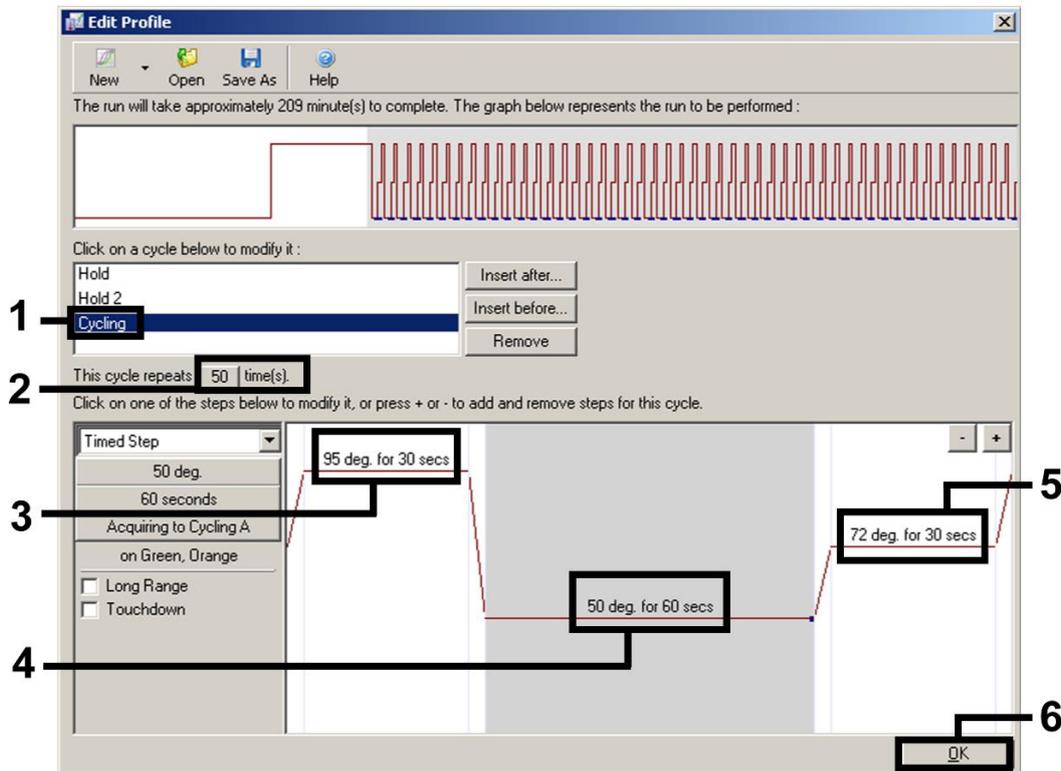


Abbildung 6. Amplifikation der DNA. Beispielhafter Screenshot für das *artus* HI Virus-1 QS-RGQ. **Hinweis:** Dieser Schritt kann sich für andere *artus* QS-RGQ Kits unterscheiden. Siehe Tabelle 1 für spezifische Informationen zu dem jeweiligen *artus* QS-RGQ Kit.

6. Der Messbereich der Fluoreszenz-Kanäle muss auf die Fluoreszenzintensität in den PCR-Ansätzen abgestimmt werden. Klicken Sie im Dialogfenster „New Run Wizard“ auf „Gain Optimisation“ (Optimierung der Verstärkung), um das Dialogfenster (siehe Abb. 3) „Auto-Gain Optimisation Setup“ (Einrichten der Optimierung der automatischen Verstärkung) zu öffnen. Stellen Sie die Kalibrierungstemperatur so

ein, dass sie der **Annealing-Temperatur** des **Amplifikationsprogramms** entspricht, und stellen Sie die **Sensitivität der Fluoreszenz-Kanäle** ein (Tabelle 2 und beispielhafter Screenshot in Abb. 7).

Tabelle 2. "Auto-Gain Optimisation" Einstellungen für artus QS-RGQ Kits

artus QS-RGQ Kit	BK Virus, VZV	CMV, EBV	HBV	HCV, HI Virus-1	HSV-1/2
Temperatur	65 Grad	65 Grad	55 Grad	50 Grad	65 Grad
Kanaleinstellungen	Grün Orange	Grün Gelb	Grün Gelb	Grün Orange	Grün Orange Gelb

Hinweis: Siehe auch entsprechendes QIASymphony RGQ Anwendungsblatt unter www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.

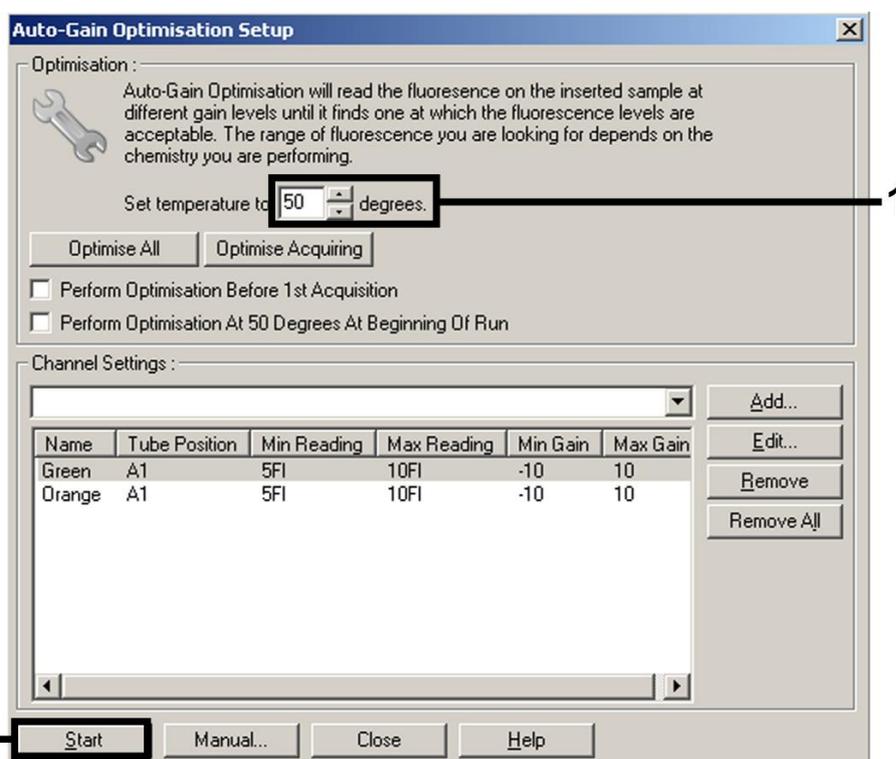


Abbildung 7. Einstellung der Sensitivität der Fluoreszenz-Kanäle. Beispielhafter Screenshot für das *artus* HI Virus-1 QS-RGQ. **Hinweis:** Dieser Schritt kann sich für andere *artus* QS-RGQ Kits unterscheiden. Siehe Tabelle 2 für spezifische Informationen zu dem jeweiligen *artus* QS-RGQ Kit.

7. Die bei der Kalibrierung der Kanäle ermittelten Verstärkungswerte werden automatisch gespeichert und im letzten Menüfenster des Programmierverfahrens aufgeführt (Abb. 8). Klicken Sie auf „Start Run“ (Lauf starten).

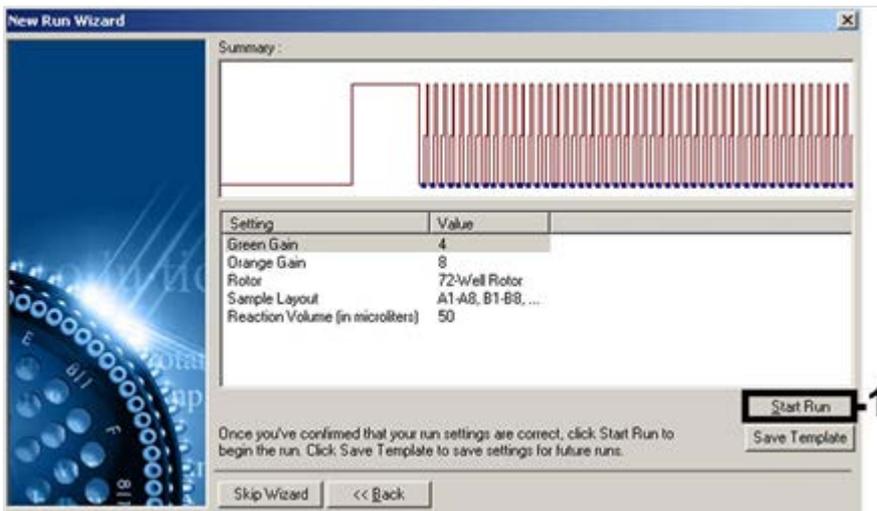


Abbildung 8. Starten des Laufs. Beispielhafter Screenshot für das *artus* HI Virus-1 QS-RGQ.

8. Importieren Sie nach dem Start des Laufs die Thermocycler-Datei, indem Sie auf die Schaltfläche  („Open“ (Öffnen)) klicken, oder bearbeiten Sie die Probanden von Hand.
9. Zur Interpretation der Ergebnisse schlagen Sie im Benutzerhandbuch des Geräts und im entsprechenden QIASymphony RGQ Anwendungsblatt unter www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx nach.

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.

Marken: QIAGEN®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN-Gruppe).

Januar 14 HB-0371-S02-003 © 2013-2014 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

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