Paramètres pour l'exécution du kit artus[®] CT/NG QS-RGQ (logiciel Rotor-Gene[®] Q version 2.1)



Vérifier la disponibilité de nouvelles révisions des notices électroniques à l'adresse <u>www.qiagen.com/products/artusctngqsrgqkitce.aspx</u> avant de procéder à la réalisation des tests. L'état de la révision actuelle est indiqué par la date de parution (format : mois/année).

Informations générales



artus CT/NG QS-RGQ Kit

Version 1, **REF** 4569365

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.
- Voir également le manuel du kit artus CT/NG QS-RGQ (artus CT/NG QS-RGQ Kit Handbook) et la fiche d'application appropriée à l'adresse www.qiagen.com/products/artusctngqsrgqkitce.aspx.
- S'assurer que les témoins positifs/négatifs, ainsi qu'au moins un témoin négatif (NTC, fourni dans le kit et transféré par le module AS par pipetage) sont inclus à chaque cycle de PCR. Le kit *artus* CT/NG QS-RGQ étant qualitatif, aucun étalon de quantification n'est fourni.

Procédure

- 1. Placer les tubes de PCR dans le rotor à 72 puits du Rotor-Gene Q.
- Placer les tubes de PCR vides avec leurs capuchons dans les positions vides du rotor.
 Ceci garantira une distribution optimale de la température dans le Rotor-Gene Q.
- 3. Verrouiller le rotor à l'aide de l'anneau de blocage.
- 4. Transférer le fichier du cycleur du QIAsymphony AS vers l'ordinateur du Rotor-Gene Q.



Sample & Assay Technologies

Juin 2013

 Ouvrir la boîte de dialogue « New Run Wizard » (Assistant de lancement 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 ».

6. Sélectionner 25 pour le volume de réaction de la PCR et cliquer sur « Next » (figure 2).

New Run Wizar This screen disp clicking Next wi	d lays miscellaneous options for the run. Complete the fiel nen you are ready to move to the next page.	Ids, This box displays help on elements in the wizard. For help
Operator : Notes :	QIAGEN	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): Sample Layout	25 • 1, 2, 3	
Skip Wizard	<< Back <u>N</u> ext >>	

Figure 2. Définition des paramètres généraux d'analyse.

 Cliquer sur le bouton « Edit Profile » (Modifier le profil) dans la boîte de dialogue « New Run Wizard » (Figure 3). Programmer le profil de température comme indiqué

Fiche de protocole du QIAsymphony RGQ :

Paramètres pour l'exécution du kit artus CT/NG QS-RGQ (logiciel Rotor-Gene Q version 2.1)

dans le tableau 1, en utilisant les captures d'écran présentées sur les figures 3 à 5 comme guide.

Temperatur	e Profile :					Click this button to move to the next page in the wizard. If it is disabled, you may need to perform an operation on this page before continuing.
Edit Profil Channel Se Green Yellow Orange Red Crimson	e stup : Source 470nm 530nm 585nm 625nm 680nm	Detector 510nm 555nm 610nm 660nm 710hp	Gain 3 5.33 5.33 5 8		 Create New Edit Edit Gain Remove Reset Defaults	
Gain Optir	misation	< Back	_	Next >>		

Figure 3. Modification du profil.

Tableau 1. Profils de température pou	r le kit artus CT/NG QS-RGQ
---------------------------------------	-----------------------------

Plateau	Température : 95 deg. Durée : 15 min
Plateau 2	Étape non requise
Cycles	45 cycles
	95 deg. pendant 11 s
	60 deg. pendant 20 s
	72 deg. pendant 20 s

Fiche de protocole du QIAsymphony RGQ : Paramètres pour l'exécution du kit *artus* CT/NG QS-RGQ (logiciel Rotor-Gene Q version 2.1)

The run will take appr	oximately 106 minute(s)	to complete. The g	raph below represents	the run to be performed	:	
Click on a cycle belov Hold Cycling Hold Temperature :	v to modify it :		sert after ert before Remove			
Hold Time :	deg. 15 mins 0 sec	:s				

Figure 4. Activation initiale de l'enzyme à démarrage à chaud (hot-start).



Figure 5. Amplification de l'ADN.

Paramètres pour l'exécution du kit artus CT/NG QS-RGQ (logiciel Rotor-Gene Q version 2.1)

Fiche de protocole du QIAsymphony RGQ :

8. 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, page 3) pour ouvrir la boîte de dialogue « Auto-Gain Optimisation Setup » (Configuration de l'optimisation du gain automatique). Régler la température de calibration à 60 pour qu'elle corresponde à la température d'hybridation du programme d'amplification (Figure 6).

Optimisation : A d a c S Optimise Perform 0 Perform 0	uto-Gain Optin ifferent gain lev cceptable. The hemistry you a et temperature AllOpti Iptimisation Be	nisation will vels until it f re performir to 60 mise Acqui fore 1st Ac 60 Degree:	read the fluorese finds one at which iluorescence you ig. degrees. ring quisition s At Beginning Of	nce on the inser h the fluorescen are looking for c	rted sample at ce levels are depends on the	e
Optimise	et temperature All Opti Optimisation Be Optimisation At	to 60 mise Acqui fore 1st Ac 60 Degrees	ting quisition s At Beginning Of	Run		
Optimise	All Opti Optimisation Be Optimisation At	mise Acqui fore 1st Ac 60 Degree:	ring quisition s At Beginning Of	Run		
Perform 0	ptimisation Be Iptimisation At	fore 1st Ac 60 Degree:	quisition s At Beginning Of	Run		
Perform 0)ptimisation At	60 Degree:	s At Beginning Of	Run		
- Channel Sett	ings :					
	-				•	<u>A</u> dd
Name T	ube Position	Min Read	ding Max Read	ing Min Gain	Max Gain	<u>E</u> dit
Green 1		1FI	10Fl	1	10	Bemove
Orange 1		1FI	10FI	1	10	
Yellow 1		1FI	10FI	1	10	Remove All
•					•	
Start	Manua	a (Close	Help		

Figure 6. Ajustement de la sensibilité du canal de fluorescence.

9. Ajustement de l'optimisation du gain. Choisir une « Plage d'échantillons cibles » de 1 Fl à 10 Fl et une « Plage de gains acceptable » de 1 à 10 (Figure 7, exemple donné pour le canal vert (Green). Ces ajustements doivent être faits pour chaque canal vert, jaune et orange (Green, Yellow, and Orange).

Fiche de protocole du QIAsymphony RGQ :

Paramètres pour l'exécution du kit artus CT/NG QS-RGQ (logiciel Rotor-Gene Q version 2.1)

	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	

Figure 7. Ajustement de l'optimisation du gain pour le canal vert (Green). Ces ajustements doivent être faits pour chaque canal vert, jaune et orange (Green, Yellow, and Orange).

 Cliquer sur le bouton « Start » (Démarrer) pour démarrer l'optimisation du gain. Une fois l'optimisation du gain terminée, cliquer sur « Close » (Fermer) pour revenir sur l'assistant de lancement de cycle (Figure 8).

	Optimisation 9	5etup				2
- Optimisatio	on :					
200	Auto-Gain Optii different gain le acceptable. Th chemistry you a	misation will read wels until it finds are performing.	the fluoresence one at which the scence you are	on the insert fluorescenc looking for d	ed sample a e levels are epends on th	ie
	Set temperature	e to 160 📫 de	egrees.			
Optim	nise All 🛛 🗍 Opt	timise Acquiring				
	m Optimisation Be	efore 1st Acquisit	ion			
	n Optimisation At	60 Degrees At F	Reginning Of Bur	, ,		
	n opamisadorriva		or the second	•		
- Channel 5	ettings :					
					•	<u>A</u> dd
Name	Tube Position	Min Reading	Max Reading	Min Gain	▼ Max Gain	<u>A</u> dd <u>E</u> dit
Name Green	Tube Position	Min Reading	Max Reading 10Fl	Min Gain	▼ Max Gain 10	<u>A</u> dd <u>E</u> dit
Name Green Orange	Tube Position	Min Reading 1FI 1FI	Max Reading 10Fl 10Fl	Min Gain 1 1	▼ Max Gain 10 10	<u>A</u> dd <u>E</u> dit <u>R</u> emove
Name Green Orange Yellow	Tube Position 1 1 1	Min Reading 1FI 1FI 1FI 1FI	Max Reading 10FI 10FI 10FI 10FI	Min Gain 1 1 1	▼ Max Gain 10 10 10	<u>A</u> dd <u>E</u> dit <u>R</u> emove Remove A <u>l</u> I
Name Green Orange Yellow	Tube Position 1 1 1	Min Reading 1FI 1FI 1FI 1FI	Max Reading 10FI 10FI 10FI 10FI	Min Gain 1 1 1	▼ <u>Max Gain</u> 10 10 10	<u>A</u> dd <u>E</u> dit <u>R</u> emove Remove A <u>l</u> I
Name Green Orange Yellow	Tube Position 1 1 1	Min Reading 1FI 1FI 1FI 1FI	Max Reading 10FI 10FI 10FI 10FI	Min Gain 1 1 1	▼ <u>Max Gain</u> 10 10 10	<u>A</u> dd <u>E</u> dit <u>R</u> emove Remove A <u>I</u>
Name Green Orange Yellow	Tube Position 1 1 1	Min Reading 1FI 1FI 1FI	Max Reading 10FI 10FI 10FI 10FI	Min Gain 1 1 1	▼ <u>Max Gain</u> 10 10 10	Add Edit Remove Remove All
Name Green Orange Yellow	Tube Position 1 1 1	Min Reading 1FI 1FI 1FI	Max Reading 10FI 10FI 10FI	Min Gain 1 1 1	▼ <u>Max Gain</u> 10 10 10	Add Edit Remove Remove All
Name Green Orange Yellow	Tube Position 1 1 1	Min Reading 1FI 1FI 1FI	Max Reading 10FI 10FI 10FI	Min Gain 1 1 1	▼ 10 10 10 10	Add Edit Remove Remove All
Name Green Orange Yellow	Tube Position 1 1 1	Min Reading 1FI 1FI 1FI	Max Reading 10FI 10FI 10FI	Min Gain 1 1 1	▼ Max Gain 10 10 10	Add Edit Remove Remove All
Name Green Orange Yellow	Tube Position 1 1 1	Min Reading 1FI 1FI 1FI	Max Reading 10FI 10FI 10FI	Min Gain 1 1 1	▼ Max Gain 10 10 10 ▶	Add Edit Remove Remove All

Figure 8. Optimisation du gain.

Paramètres pour l'exécution du kit artus CT/NG QS-RGQ (logiciel Rotor-Gene Q version 2.1)

 Les valeurs de gain déterminées par la calibration de canal sont automatiquement enregistrées et répertoriées dans la dernière fenêtre de menu de la procédure de programmation (Figure 9). Cliquer sur « Start Run » (Démarrer le cycle).

New Run Wizard			×
Summary :			
Setting	Value		
Green Gain	3		
Orange Gain	5.33		
Yellow Gain	5.33		
Rotor Sample Laward	72-Well Hotor		
Beaction Volume (in microliters)	1, 2, 3, 25		
			Start Run
Once you've confirmed that your r begin the run. Click Save Templat	un settings are co e to save setting:	prrect, click Start Run to s for future runs.	Save Template
Skip Wizard << <u>B</u> ack			

Figure 9. Démarrage du cycle.

- Après avoir lancé le cycle, importer les informations à partir du fichier du cycleur en cliquant sur le bouton (« Open » [Ouvrir]) ou modifier les échantillons manuellement.
- Pour l'interprétation des résultats, voir le manuel d'utilisation de l'appareil et la fiche d'application QIAsymphony RGQ appropriée disponible à l'adresse www.qiagen.com/products/artusctnggsrgqkitce.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 <u>www.qiagen.com</u> ou peuvent être demandés auprès des Services techniques QIAGEN ou du distributeur local.

Marques de commerce : QIAGEN[®], QIAsymphony[®], artus[®], Rotor-Gene[®] (Groupe QIAGEN).

© 2013 QIAGEN, tous droits réservés.

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	
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	GIAGE

Sample & Assay Technologies