# Hoja de protocolo del QIAsymphony<sup>®</sup> RGQ

## Ajustes del análisis con el kit artus<sup>®</sup> CT/NG QS-RGQ (Rotor-Gene<sup>®</sup> Q, software 2.1)



Antes de realizar el análisis compruebe si existen nuevas revisiones electrónicas de la documentación en <u>www.qiagen.com/products/artusctngqsrgqkitce.aspx</u>. El estado actual de la revisión viene indicado por la fecha de edición (formato: mes/año).

#### Información general



artus CT/NG QS-RGQ Kit

Versión 1, **REF** 4569365

### Cuestiones importantes antes de comenzar

- Dedique tiempo suficiente a familiarizarse con el instrumento Rotor-Gene Q antes de iniciar el protocolo. Consulte el manual del usuario del instrumento.
- Consulte también el Manual del kit artus CT/NG QS-RGQ (artus CT/NG QS-RGQ Kit Handbook) y la hoja de aplicación pertinente en www.qiagen.com/products/artusctngqsrgqkitce.aspx.
- Asegúrese de que los controles positivos/negativos y de que al menos un control negativo (NTC, suministrado con el kit y pipeteado por el módulo AS) se incluyan en el ciclo de PCR. El kit artus CT/NG QS-RGQ es un ensayo cualitativo, por lo que no se suministran estándares de cuantificación.

#### Procedimiento

- 1. Coloque los tubos de PCR en el rotor de 72 pocillos del Rotor-Gene Q.
- Coloque tubos vacíos de PCR, con tapas, en las posiciones vacías del rotor.
   De este modo se asegura una distribución óptima de la temperatura en el Rotor-Gene Q.
- 3. Bloquee el rotor con el anillo de fijación.
- 4. Transfiera el archivo del termociclador del QIAsymphony AS al ordenador del Rotor-Gene Q.



Sample & Assay Technologies

Junio 2013

 Abra el cuadro de diálogo "New Run Wizard" (asistente para nuevo ciclo) (figura 1). Marque la casilla "Locking Ring Attached" (anillo de bloqueo acoplado) y haga clic en "Next" (siguiente).



Figura 1. Cuadro de diálogo "New Run Wizard".

 Seleccione 25 en el campo "Reaction Volume (μL):" (volumen de reacción) y haga clic en "Next" (figura 2).

New Run Wizaro		×
This screen disp clicking Next wh	ays miscellaneous options for the run. Complete the fields, en you are ready to move to the next page.	This box displays help on elements in the wizard. For help
Operator :	QIAGEN	on an item, hover your mouse over the
Notes :		item for help. You can also click on a combo box to display help about its available settings.
Reaction Volume (μL):	25 -	
Sample Laugut	1, 2, 3	
Sample Layout .	,	
Sample Layout .		

Figura 2. Configuración de los parámetros generales del ensayo.

Hoja de protocolo del QIAsymphony RGQ:

Ajustes del análisis con el kit artus CT/NG QS-RGQ (RGQ software 2.1)

7. Haga clic en el botón "Edit Profile" (editar perfil) en el siguiente cuadro de diálogo "New Run Wizard" (figura 3). Programe el perfil de temperatura tal como se muestra en la tabla 1, utilizando las capturas de pantalla mostradas en las figuras 3-5 como guía.



Figura 3. Edición del perfil.

Tabla 1. Perfiles a	le temperatura	para el kit artus	CT/NG QS-RGQ
---------------------	----------------	-------------------	--------------

Retención	Temperatura: 95 °
	Tiempo: 15 minutos
Retención 2	Paso no requerido
Ciclos	45 ciclos
	95 ° durante 11 segundos
	60 ° durante 20 segundos
	72 ° durante 20 segundos

Hoja de protocolo del QIAsymphony RGQ:

Ajustes del análisis con el kit artus CT/NG QS-RGQ (RGQ software 2.1)

New Open The run will take app	Save As Help roximately 106 minute(s) to co	mplete. The graph below rep	esents the run to be performe	:	
Click on a cycle belo Hold Cycling	w to modify it :	Insert after Insert before Remove			
Hold Temperature : Hold Time :	95deg. 15 mins 0 secs				

Figura 4. Activación inicial de la enzima hot-start (arranque en caliente).



Figura 5. Amplificación del ADN.

8. El intervalo de detección de los canales de fluorescencia debe determinarse según las intensidades de fluorescencia de los tubos de PCR. Haga clic en "Gain Optimisation" (optimización de ganancia) en el cuadro de diálogo "New Run Wizard" (consulte la figura 3, página Fehler! Textmarke nicht definiert.) para abrir el cuadro de diálogo "Auto-Gain Optimisation Setup" (configuración de la optimización de ganancia automática). Configure la temperatura de calibración en 60 para que coincida con la temperatura de renaturalización del programa de amplificación (figura 6).

- Optimisatio	Optimisation 9 on :	Setup misation will read wels until it finds re range of fluor are performing.	d the fluoresence s one at which the escence you are	on the insert fluorescenc looking for d	ed sample at e levels are epends on th	e
	Set temperature	e to  60 🕂 d	legrees.			
Optim	nise All 🛛 🗍 Opt	imise Acquiring				
Perform	m Optimisation Be	efore 1st Acquis	ition			
Perform	m Optimisation At	60 Degrees At	Beginning Of Rur	n		
CI						
- Channel S	iettings : ———					
- Channel S	iettings :				•	<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	Ettings :	Min Reading	Max Reading	Min Gain	▼ Max Gain 10	<u>A</u> dd <u>E</u> dit Remove
Name Green Orange	Tube Position	Min Reading 1FI 1FI	Max Reading 10FI 10FI 10FI	Min Gain	Max Gain 10 10	<u>A</u> dd <u>E</u> dit <u>R</u> emove
Name Green Orange Yellow	Tube Position	Min Reading 1FI 1FI 1FI 1FI	Max Reading 10Fl 10Fl 10Fl 10Fl	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	Min Reading 1FI 1FI 1FI 1FI	Max Reading 10Fl 10Fl 10Fl 10Fl	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>I</u> I
Name Green Orange Yellow	Ettings : 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> I
Name Green Orange Yellow	Tube Position	Min Reading 1FI 1FI 1FI 1FI	Max Reading 10Fl 10Fl 10Fl 10Fl	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>I</u> I
Name Green Orange Yellow	Ettings : 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 10	<u>A</u> dd <u>E</u> dit <u>R</u> emove Remove A <u>I</u> I

Figura 6. Ajuste de la sensibilidad de los canales de fluorescencia.

9. Ajuste de la optimización de la ganancia. Seleccione un "Target Sample Range" (intervalo deseado de las muestras) entre 1 Fl y 10 Fl, como máximo, así como un "Acceptable Gain Range" (intervalo aceptable de ganancia) entre 1 y 10 (figura 7, se muestra un ejemplo para el canal Green [verde]). Hay que efectuar estos ajustes en cada canal (Green, Yellow [amarillo] y Orange [naranja]).

	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	

**Figura 7. Ajuste de la optimización de la ganancia para el canal Green.** Hay que efectuar estos ajustes en cada canal (Green, Yellow y Orange).

 Haga clic en el botón "Start" (Inicio) para iniciar la optimización de la ganancia. Una vez concluida la optimización de la ganancia, haga clic en "Close" (Cerrar) para regresar el asistente de ciclo (figura 8).

Suco-Gain	Optimisation 9	ietup				×
	n : 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 a e levels are epends on th	t ne
	Set temperature	e to 60 📑 de	egrees.			
Optim	ise All Opt	imise Acquiring				
Perform	n Optimisation Be	fore 1st Acquisit	tion			
Perform	n Optimisation At	60 Degrees At B	Beginning Of Rur	n		
- Channel S	ettings :					
					•	<u>A</u> dd
Name	Tube Position	Min Reading	Max Reading	Min Gain	Max Gain	<u>E</u> dit
Green	1	1FI	10Fl	1	10	Bemove
Green Orange	1	1FI 1FI	10FI 10FI	1	10 10	<u>R</u> emove
Green Orange Yellow	1 1 1	1FI 1FI 1FI	10Fl 10Fl 10Fl	1 1 1	10 10 10	<u>R</u> emove Remove A <u>I</u> I
Green Orange Yellow	1 1 1	1FI 1FI 1FI	10FI 10FI 10FI	1 1 1	10 10 10	<u>R</u> emove Remove A <u>I</u> I
Green Orange Yellow	1 1 1	1FI 1FI 1FI	10FI 10FI 10FI	1 1 1	10 10 10	<u>R</u> emove Remove A <u>I</u>
Green Orange Yellow	1 1 1	1FI 1FI 1FI	10FI 10FI 10FI	1 1 1	10 10 10	<u>R</u> emove Remove A <u>I</u> I
Green Orange Yellow	1 1 1	1FI 1FI 1FI	10FI 10FI 10FI	1 1	10 10 10	<u>R</u> emove
Green Orange Yellow	1	1FI 1FI 1FI	10FI 10FI 10FI	1 1	10 10 10	<u>R</u> emove Remove A <u>I</u>

Figura 8. Optimización de la ganancia.

11. Los valores de ganancia determinados por la calibración de los canales se guardan automáticamente y se muestran en la última ventana de menú del procedimiento de programación (figura 9). Haga clic en "Start Run" (comenzar ciclo).

Ne	ew Run Wizard		×	
1	Summary :			
	Setting	Value		
	Green Gain	3		
	Orange Gain	5.33		
	Yellow Gain	5.33		
	Rotor	72-Well Rotor		
	Sample Layout	1, 2, 3,		
	Heaction Volume (in microliters)	25		
1	Dince you've confirmed that your re	un settings are co	Start Run orrect, click Start Run to Save Template	┢
l	begin the run. Click Save Templat	e to save settings	s for future runs.	
	Skip Wizard << <u>B</u> ack			

Figura 9. Inicio del ciclo.

- 12. Después de iniciar el ciclo, importe la información del archivo del termociclador haciendo clic en el botón 🤎 ("Abrir"), o edite las muestras manualmente.
- 13. Para interpretar los resultados, consulte el manual del instrumento y la hoja de aplicación pertinente en www.giagen.com/products/artusctnggsrggkitce.aspx.

Si desea obtener información actualizada sobre la licencia y las exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual o la guía de usuario del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales y las guías de usuario de los kits QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse al Servicio Técnico de QIAGEN o al distribuidor local.

Marcas comerciales: QIAGEN<sup>®</sup>, QIAsymphony<sup>®</sup>, artus<sup>®</sup>; Rotor-Gene<sup>®</sup> (Grupo QIAGEN).

© 2013 QIAGEN, reservados todos los derechos.

www.qiagen.com	<b>Denmark =</b> 80-885945	<b>Italy =</b> 80
Australia = 1-800-243-800	Finland = 0800-914416	<b>Japan =</b> 0
Austria = 0800-281011	France = 01-60-920-930	Korea (So
Belgium = 0800-79612	Germany = 02103-29-12000	Luxembo
Brazil = 0800-557779	Hong Kong = 800 933 965	Mexico =
<b>Canada =</b> 800-572-9613	India = 1-800-102-4114	The Neth
China = 800-988-0325	Ireland = 1800 555 049	Norway =

0-787980 3-6890-7300 outh) = 080-000-7145 urg = 8002 2076 01-800-7742-436 erlands = 0800 0229592 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