

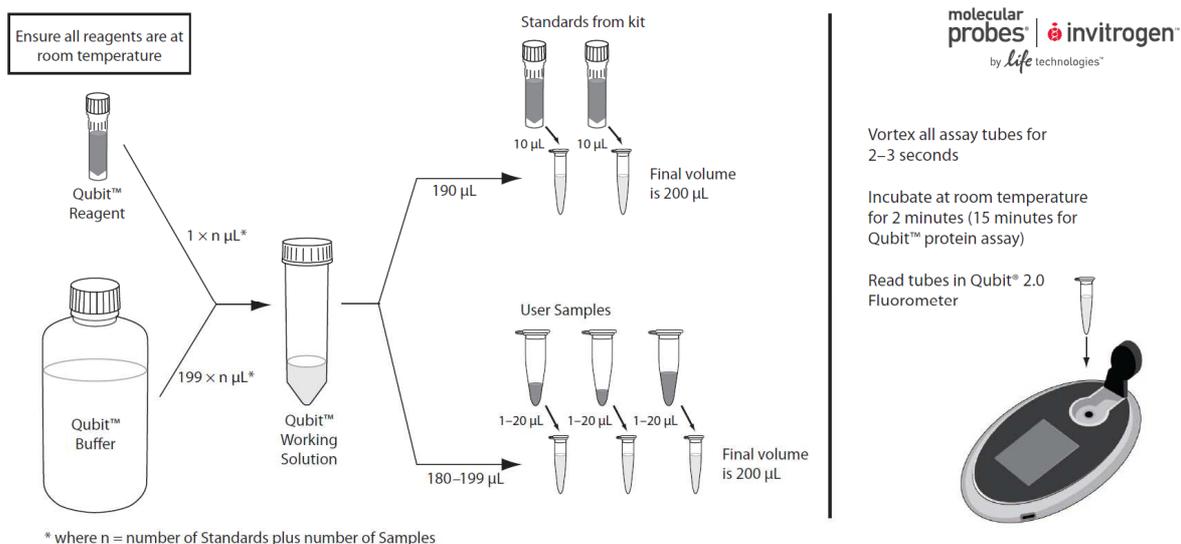
Qubit® 2.0 Fluorometer

The Qubit® 2.0 Fluorometer is a benchtop fluorometer for the quantitation of DNA, RNA, and protein, using the highly sensitive and accurate fluorescence-based Qubit™ quantitation assays. Use of the state-of-the-art dyes selective for dsDNA, RNA, and protein minimizes the effects of contaminants in your sample that affect the quantitation. Further, the very latest illumination and detection technologies used in the Qubit® 2.0 Fluorometer for attaining the highest sensitivity allow you to use as little as 1 µL of sample and still achieve high levels of accuracy, even with very dilute samples.

Les différents kits par 25 réactions (assay tubes, dsDNA HS, ssDNA, RNA, Protein) sont disponibles dans le frigo (kits) et sur la paillasse (tubes) de la pièce 144. A chaque fois que vous prenez un kit, notez sur la feuille qui est affichée sur le frigo.

PROTOCOLE DE PREPARATION DES ECHANTILLONS

1. Pour de meilleurs résultats, stocker le "Qubit Reagent" et "Qubit Buffer" à température ambiante.
2. Stocker les standards (DNA, RNA et protein) à 4°C.
3. S'assurer que tous les réactifs soient à température ambiante avant de commencer.
4. Préparer 2 tubes pour les standards (3 pour les dosages protéine) et 1 tube pour chaque échantillon à doser. Tubes de 0,5 ml spécifiques au Qubit (référence Q32856)
5. Préparer la « Qubit Working Solution » en diluant le « Qubit reagent » 1 :200 dans le « Qubit buffer ». Préparer 200µl de « Working Solution » pour chaque standard et échantillons.



For research use only. Not intended for any animal or human therapeutic or diagnostic use.

©2010 Life Technologies Corporation. All rights reserved. The trademarks mentioned herein are the property of Life Technologies Corporation or their respective owners.

6. Préparer les tubes* et les échantillons comme précisé dans les tableaux suivants :

	Standard Assay Tubes	User Sample Assay Tubes
Volume of Working Solution (from step 2) to add	190 µL	180–199 µL
Volume of Standard (from kit) to add	10 µL	—
Volume of User Sample to add	—	1–20 µL
Total Volume in each Assay Tube	200 µL	200 µL

* Use only thin-wall, clear 0.5 mL PCR tubes. Acceptable tubes include Qubit® assay tubes (set of 500, Cat. no. Q32856) or Axygen PCR-05-C tubes (VWR, part no. 10011-830).

[NANODROP] ng/µl	Dilution échantillon initial	User sample (µl)	Working solution (µl)
0-10	-	20	180
10-20	-	10	190
20-30	-	5	195
30-50	-	2	198
50-100	-	1	199
100-200	1/2	1	199
200-300	1/3	1	199
300-400	1/4	1	199
400-600	1/5	1	199
600-800	1/7	1	199
800-1000	1/10	1	199

- Vortexer tous les tubes pendant 2-3 secondes.
- Incuber les tubes (ADN/ARN) pendant 2 minutes à température ambiante (15 minutes pour les protéines).
- Insérer les tubes dans l'appareil et faire les lectures en suivant la procédure suivante :

PROCEDURE D'UTILISATION DU Qubit® 2.0 Fluorometer



1. Brancher l'appareil et choisir le type d'analyse.



2. L'écran est tactile. Appuyez sur le type d'échantillon concerné.

Dans DNA, vous aurez 3 choix possibles :

- dsDNA High Sensitivity (kit disponible par défaut et utilisé pour l'ADN double brin)
- dsDNA Broad Range (non disponible)
- ssDNA (disponible et pour ADN simple brin)

Dans RNA, vous aurez 2 choix possibles :

- RNA (kit disponible par défaut)
- RNA Broad Range (non disponible)

3. Une fois votre type d'analyse sélectionné, l'appareil vous demande si vous voulez doser des standards (2 pour ADN et ARN – 3 pour les protéines)



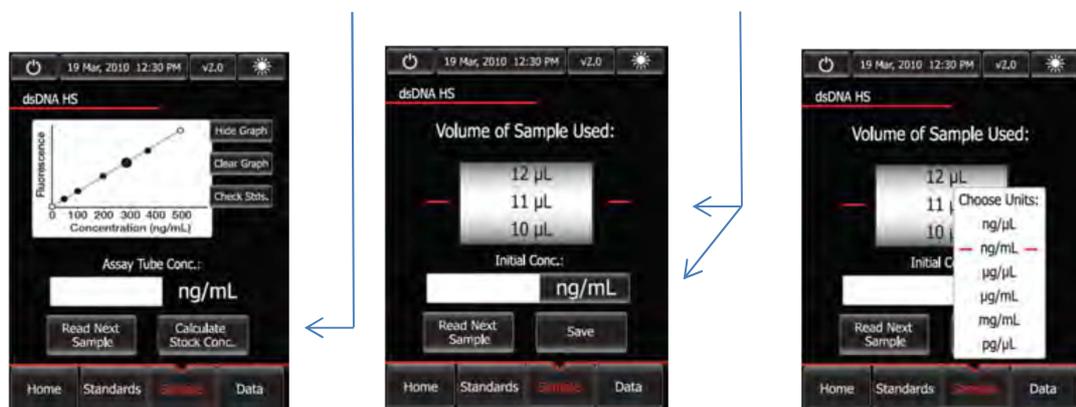
- Si oui, insérer dans l'appareil le standard n°1, préparé dans les conditions précédentes et appuyez sur « Read »



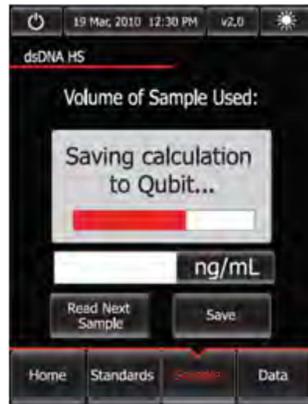
- De même pour le standard n°2. Une fois les 2 standards dosés, vous devez obtenir cette courbe : le standard n°1 à 0 ng/mL et le standard n°2 à 500 ng/mL. Ensuite, insérez dans l'appareil votre 1^{er} échantillon et tapez sur « Read ». Votre échantillon doit se situer entre les 2 points des standards sur la courbe.



- Votre échantillon est dosé en ng/mL. Pour calculer la concentration de votre échantillon original, appuyez sur « Calculate Stock Conc. », sélectionnez le volume que vous avez dilué initialement (1 à 20 μ l) en pressant vers le bas ou le haut, changez si vous le souhaitez l'unité de concentration en ng/ μ l en appuyant sur « ng/mL » qui est l'unité par défaut.



7. Sauvegarder vos données en appuyant sur « Save ».



8. Transfert des données : une fois vos dosages terminés, Appuyez sur « Data ». Brancher votre clé USB.



9. Enregistrez vos données sur votre clé USB en appuyant sur le dessin de la clé à l'écran



10. Les données sont enregistrées en fichier « .csv ». Ouvrir sous excel.

Attention : dans le fichier les données sont rangées de la plus récente à la plus ancienne. Par conséquent le 1^{er} dosage est en fin de fichier ...

11. Pour finir, vider l'appareil de vos données une fois enregistrées sur la clé USB pour l'utilisateur suivant.