

Il Servizio utilizza uno strumento ad alta produttività per la Real Time qPCR. Tale strumentazione utilizza piastre a 384 pozzetti che non solo permettono di analizzare un numero elevato di campioni contemporaneamente, ma anche, riducendo i volumi di reazione, di diminuire il costo della singola reazione. Per utilizzare tale tecnologia è necessaria la prenotazione sulle pagine web SBM (www.sbmweb.it). In tutti i giorni lavorativi sono previste sette corse secondo il seguente calendario:

1. Turno 1 a partire dalle 9:30
2. Turno 2 a partire dalle 10:45
3. Turno 3 a partire dalle 12:00
4. Turno 4 a partire dalle 13:15
5. Turno 5 a partire dalle 14:30
6. Turno 6 a partire dalle 15:45
7. Turno 7 a partire dalle 17:00

Si prega, se possibile, di evitare prenotazioni consecutive da parte dello stesso utente. Lo strumento può essere utilizzato direttamente dall'utente seguendo le seguenti "linee guida di configurazione veloce e di corsa". Si raccomanda, la prima volta, di chiedere istruzioni al personale del servizio. I volumi di reazione ed il profilo termico suggeriti e validati per la chimica in uso sono di seguito riportati:

Configurazione rapida e le linee guida per la corsa

Preparazione piastre secondo il "protocollo standard"

<u>Aggiungere nell'ordine</u>	<u>Campione</u>	
<u>1°</u>	SYBR Master Mix	5,0 ul
<u>2°</u>	Oligo F + Oligo R [0,7 pmol/ul] each	4,0 ul
<u>3°</u>	cDNA	1,0 ul
V tot.		10,0 ul

Le piastre di reazione saranno analizzate in base al profilo termico **standard** or **Fast**

Profili termici

Standard SYBR (durata ≈ 1 h 50 min)			Fast SYBR (durata ≈ 50 min)		
Step 1	95°-10 min		Step 1	95°-10 min	
Step 2	95°-15 sec		Step 2	95°-1 sec	
Step 4	60 °- 1 min	39 times	Step 4	60 °-20 sec	
Go to	2		Go to	2	39 times
Step 6	Melting	60°-95°	Step 6	Melting	

Allestimento e corsa:

1. Accendere lo strumento con il pulsante sul lato posteriore sinistro.
2. Premere il pulsante rosso nell'angolo in basso a destra del touch screen. Dal lato destro dello strumento apparirà il vassoio caricatore della piastra.
3. Posizionare la piastra nel giusto orientamento (posizione A1 nell'angolo superiore sinistro) assicurandosi che sia inserita **correttamente sul vassoio**.
4. Premere di nuovo sul touch screen il pulsante rosso in basso a destra per caricare la piastra.
5. Nella schermata principale nella sezione "my shortcuts", premere, a seconda del SYBR kit che si sta utilizzando:

“SBM_SYBR_delta_delta_ct_standard_10ul_no_rox” for standard SYBR without ROX

“SBM_SYBR_delta_delta_ct_FAST_10ul_rox” for Fast SYBR with ROX

“SBM_SYBR_delta_delta_ct_FAST_10ul_no_rox” for standard SYBR without ROX

6. Nella sezione “notes” inserire il proprio nome utilizzando la tastiera touch che apparirà.
7. Premere “start run now”

Download del file del risultato:

1. Accertarsi che la corsa sia stata completata (controllare il “run time”).
2. Nella schermata principale premere sul touch screen “collect results”.
3. Inserire la memoria USB sul lato destro del touch screen.
4. Selezionare il file appropriato.
5. premere “copy to USB”

PRENOTAZIONE

Gli utenti che si prenotano per la qPCR sono invitati a indicare oltre al nome un riferimento (mail o telefono)

qPCR system booking (February/Febbraio)

qPCR system booking (March/Marzo)