

Sommaire	Nombre de flacons	Volume	Conditions de conservation
Tampon, enzymes, amorces et sonde pour le contrôle interne intype®	1	1,50 ml	-30 °C à -15 °C

Description

IndiMix JOE permet l'amplification en temps réel de cibles d'acides nucléiques simples ou multiples et contient de la polymérase et de la transcriptase inverse pour amplifier les cibles d'ADN et d'ARN. Les amorces et la sonde sont pré-mélangés pour identifier le contrôle interne intype. La sonde qui cible le contrôle interne est étiquetée JOE™ et détectée dans le canal JOE/HEX™/VIC®. IndiMix JOE contient le colorant ROX™ comme un colorant de référence passif à utiliser sur les instruments Applied Biosystems™, y compris l'Applied Biosystems 7500, ViiA™ 7 et les systèmes QuantStudio™. IndiMix JOE est compatible avec les instruments qui ne requièrent pas le colorant ROX, y compris le Rotor-Gene® Q et Bio-Rad CFX96™.

Conservation et manipulation

- À réception, conserver le matériel entre -30 °C et -15 °C, à l'écart de toute source d'ADN ou d'ARN contaminant, surtout l'ADN amplifié
- Protéger de la lumière pendant la conservation et la manipulation
- Éviter la congélation et décongélation à répétition (plus de 5 fois), car cela pourrait réduire la performance
- En cas d'utilisation intermittente, congeler en aliquotes
- Utiliser des pointes de pipette avec barrières contre les aérosols pour le pipetage
- Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur l'étiquette
- Éliminer tous les résidus d'échantillon et objets conformément aux réglementations nationales et locales

Informations du contrôle interne

La matrice de contrôle interne, utilisable comme contrôle d'extraction ou d'amplification, est disponible séparément comme intype IC-DNA (N° de réf. IC289980) et intype IC-RNA (N° de réf. IC289970). Le contrôle interne peut être utilisé pour surveiller l'ensemble du flux de travail

PCR afin de détecter les inhibiteurs ou d'autres problèmes du flux de travail, y compris les erreurs et défaillances d'extraction, de réactif ou d'instrument.

- Pour l'utilisation comme contrôle d'extraction, ajouter 2-5 µl d'intype IC-DNA ou d'intype IC-RNA par échantillon dans le tampon de lyse avant la purification de l'acide nucléique.
- Pour l'utilisation comme contrôle d'amplification, ajouter 0,2-0,4 µl d'intype IC-DNA ou d'intype IC-RNA par réaction PCR.

Tableau 1. Préparation du mélange réactionnel*

Composant	Volume par réaction
IndiMix JOE	15 µl
Amorces et sonde(s) pour la/les cible(s) d'intérêt**	2 µl
Master mix***	17 µl****
Échantillon d'acides nucléiques	8 µl
Volume total de réaction PCR	25 µl

* Utiliser 12 µl d'IndiMix JOE pour 20 µl de réactions PCR et ajuster les composants restants en fonction

** Concentration d'amorce recommandée de 400 à 800 nM et une concentration de sonde de 200 nM pour la réaction finale

*** Pour le contrôle d'amplification, ajouter le volume d'intype IC-DNA/RNA approprié au Master Mix et ajuster le volume en fonction ou dépasser légèrement le volume de réaction

**** Combiner l'IndiMix JOE (15 µl), les amorces et les sondes (2 µl) pour le volume total du Master mix (17 µl)

Recommandations procédurales

Attention: à protéger de la lumière vive et directe, l'IndiMix JOE et le Master Mix préparé sont sensibles à la lumière. Nous recommandons d'utiliser des flacons et des tubes transparents pour permettre une



inspection visuelle lorsque vous assurez un mélange correct. Afin d'assurer des volumes de transfert précis, il est recommandé de régler une vitesse moyenne pour les pipettes automatiques ou pas à pas

- Décongeler l'IndiMix JOE sur de la glace
- Inverser l'IndiMix JOE 5 fois ou jusqu'à ce qu'il soit bien mélangé, puis centrifuger brièvement pour éliminer les gouttelettes du bouchon.
- Sur la glace, utiliser un tube stérile pour préparer le Master Mix avec les volumes indiqués dans le tableau 1
- Inverser le Master Mix préparé 5-10 fois ou jusqu'à ce qu'il soit bien mélangé, puis centrifuger brièvement pour éliminer les gouttelettes du bouchon
- Prélever le Master Mix et transférer dans les tubes/puits de PCR appropriés, traiter dans un portoir de réfrigération PCR ou sur de la glace
- Ajouter 8 µl d'acides nucléiques de l'échantillon aux tubes/puits de PCR
- Fermer les tubes ou sceller la plaque et inverser 5 fois ou jusqu'à ce que le mélange soit complet
- Centrifuger pendant 5 secondes pour centrifuger les gouttelettes au fond du tube/des puits de PCR
- Exécuter le programme du thermocycleur comme indiqué au Tableau 2

Tableau 2. Programme du thermocycleur

Étape	Température	Durée	Nombre de cycles
Transcription inverse*	50 °C	10 min	1
Inactivation RT/inactivation initiale	95 °C	2 min	1
2-step cycling			
Dénaturation	95 °C	5 s	40
Hybridation/extension**	60 °C	30 s	

* N'affecte pas la performance avec les ADN cibles, peut être exclu quand un cycle contient exclusivement de l'ADN

** Collecte des données de fluorescence

Le temps de dénaturation ainsi que la température et les temps de renaturation/extension peuvent être modifiés selon la configuration spécifique du laboratoire. Veuillez consulter INDICAL pour l'assistance technique.

Analyse des résultats

Examiner attentivement le graphique d'amplification, en ajustant les valeurs de base et seuil, le cas échéant. Si aucun inhibiteur n'a d'effet négatif sur le résultat, la cible et/ou l'IC doit être amplifié dans chaque réaction de PCR. Si cela concerne les deux, la cible et l'IC ne sont pas amplifiés dans une réaction, il est recommandé de répéter l'amplification par PCR avec une dilution 5x des acides nucléiques de l'échantillon dans de l'eau exempte de nucléase. Veuillez contacter l'assistance technique INDICAL pour plus d'informations (voir ci-dessous).

Contrôle qualité

Chaque lot de ce produit a été fabriqué et approuvé conformément au système de gestion de la qualité certifié ISO d'INDICAL.

Informations de sécurité

Veuillez consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées pour ce produit. Pour plus d'informations, les FDS sont disponibles auprès de votre responsable des ventes régional ou peuvent être fournies en envoyant un e-mail à compliance@indical.com. Lors de la manipulation de produits chimiques, toujours porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats.

Pour les applications de biologie moléculaire. Ce produit n'est pas destiné au diagnostic à la prévention ou au traitement d'une maladie.

Marques commerciales : intype® (INDICAL BIOSCIENCE GmbH). Applied Biosystems™ 7500, QuantStudio™, ViiA™ (Applied Biosystems) ; BioRad CFX96™ (BioRad Technologies) ; HEX™, JOE™, ROX™, VIC® (Life Technologies Corporation) ; Rotor-Gene® (QIAGEN GmbH). Les sondes sous licence fabriquées par Integrated DNA Technologies Inc., les noms déposés, les marques commerciales, etc. cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi. Pour les conditions de licence mises à jour, consultez www.indical.com.

HB-2562-EN-002 © 2021-2022 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, tous droits réservés.

Historique des modifications

Manuel	Version	Modification
HB-2562-EN-002	Février 2022	Révision de la fiche produit
HB-2562-EN-001	Mai 2021	Lancement du produit

INDICAL
BIOSCIENCE

Pour commander :
Assistance technique :

Monde entier :
orders@indical.com
support@indical.com

Amérique du Nord :
us_orders@indical.com
us_support@indical.com