applied biosystems by life technologies™

GlobalFiler™ Express PCR Amplification Kit – PCR Amplification and CE

Pub. No. 4481783 Rev. A Translated from English Publication Number 4480794 Rev. B

Remarque : Pour obtenir des instructions en matière de sécurité et de risques biologiques, consulter la section « Sécurité » du *GlobalFiler™ Express PCR Amplification Kit User Guide* (Pub. no. 4477672). Concernant les produits chimiques, lire les fiches signalétiques (FS) et suivre les consignes de manipulation. Porter des lunettes de sécurité, des gants et des vêtements appropriés.

- Présentation du produit . . . 1
- Prérequis . . . 1
- Réalisation de la PCR . . . 1
- Exigences en matière d'échelle allélique . . . 2
- Exigences des instruments d'électrophorèse . . . 2
- Analyse des données . . . 4
- Garantie limitée . . . 4

Présentation du produit

Le GlobalFiler™ Express Kit (200 réactions, Part no. 4476609 ou 1 000 réactions, Part no. 4474665) est un multiplex STR qui amplifie 21 loci STR autosomiques, Amélogénine, 1 locus Y STR, et 1 locus Y insertion/suppression (Y indel). Il est optimisé afin de permettre l'amplification directe des échantillons à source unique.

Prérequis

Avant de commencer :

- Configurer les échantillons :
  - Échantillons sanguins ou buccaux récupérés sur des substrats en papier traité (description dans la référence rapide Pub. no. 4481765)
  - Échantillons sanguins ou buccaux récupérés sur des substrats en papier non traité (description dans la référence rapide Pub. no. 4481774)
  - Échantillons buccaux récupérés sur des substrats d'écouvillons (description dans la référence rapide Pub. no. 4481756)
- Placer ce guide dans la zone du laboratoire où les procédures post-PCR sont réalisées.

Réalisation de la PCR

IMPORTANT ! Le GlobalFiler™ Express Kit est approuvé pour être utilisé avec le Veriti® Thermal Cycler, le GeneAmp® PCR System 9700 avec bloc d'échantillons plaqué or (Part no. 4314878) ou le bloc d'échantillons en argent (Part no. N8050001).

1. Programmer les conditions de thermocyclage.

IMPORTANT! Si le GeneAmp PCR System 9700 est utilisé, sélectionner le mode de rampe **Max**. Si le Veriti® Thermal Cycler est utilisé, sélectionner le mode de rampe **100 %**. NE PAS utiliser le mode d'émulation 9600.

Étape d'incubation initiale	Nombre optimal de cycles†		Extension finale	Étape finale
	Dénaturation	Hybridation/extension		
PAUSE	**CYCLE**		**PAUSE**	**PAUSE**
95 °C 1 min	94 °C 3 s	60 °C 30 s	60 °C 8 min	4 °C ∞

† Déterminer le nombre optimal de cycles pour votre laboratoire, en fonction des instructions fournies dans le Guide de l'utilisateur.

life technologies™

2. Charger la plaque dans le thermocycleur et fermer le couvercle chauffant.

IMPORTANT ! Si le thermocycleur 9700 avec bloc en argent ou en argent plaqué or est utilisé, placer un MicroAmp® Compression Pad (Part no. 4312639) sur la plaque, afin d'éviter tout phénomène d'évaporation pendant le thermocyclage. Le Veriti® Thermal Cycler ne requiert pas l'utilisation d'un tapis de compression.

3. Démarrer l'exécution.

4. À la fin de la série, stocker l'ADN amplifié.

Si l'utilisateur stocke l'ADN ...	Conserver à une température de ...
< 2 semaines	2 à 8°C
> 2 semaines	–15 à –25°C

IMPORTANT ! Mettre les produits amplifiés à l'abri de la lumière.

Exigences en matière d'échelle allélique

Pour un génotypage précis des échantillons, lancer un échantillon d'échelle allélique en même temps qu'une série d'échantillons inconnus.

Instrument	Nombre d'échelles alléliques à lancer	Une injection égale	Nombre d'échantillons par échelle(s) allélique(s)
3130	1 pour 4 injections	4 échantillons	15 échantillons + 1 échelle allélique
3130*xl*	1 par injection	16 échantillons	15 échantillons + 1 échelle allélique
3500	1 pour 3 injections	8 échantillons	23 échantillons + 1 échelle allélique
3500xL	1 par injection	24 échantillons	23 échantillons + 1 échelle allélique
3730	3 par injection	48 échantillons	15 échantillons + 1 échelle allélique

IMPORTANT ! La variation de la température du laboratoire peut entraîner des modifications de la vitesse de migration et de la taille des fragments entre les séries. Nous recommandons la fréquence d'injections d'échelles alléliques ci-dessus, car elle permet de compenser les variations normales de la vitesse d'exécution. Cependant, au cours des études de validation internes, vérifier la fréquence d'injection des échelles alléliques afin de s'assurer que le génotypage de tous les échantillons de votre laboratoire a été effectué de manière précise.

Il est essentiel de procéder au génotypage à l'aide d'une série d'échelles alléliques, dans les mêmes conditions que pour les échantillons, car les valeurs de taille obtenues pour un même échantillon peuvent varier d'un instrument à l'autre en raison de matrices de polymère et de conditions d'électrophorèse différentes.

Exigences des instruments d'électrophorèse

Exigences des instruments de la 3130 Series (avant utilisation, activer la licence 6 filtres, comme décrit dans le Guide de l'utilisateur)

Analyseur génétique	Système d'exploitation	Logiciel de collecte de données	Logiciel supplémentaire	Modules et conditions d'analyse	Références
3130	Windows® 7	Data Collection Software 4	3130/3730 DC v4 6-Dye Module v1 (contacter Life Technologies)	• HIDFragmentAnalysis36_POP4_1 Conditions d'injection : 3 kV/5 sec Conditions d'exécution : 15 kV/1 500 sec • Jeu de filtres J6	*Applied Biosystems 3130 Series Data Collection Software 4 Getting Started Guide* (Pub. no. 4477796)
3130*xl*†				• HIDFragmentAnalysis36_POP4_1 Conditions d'injection : 3 kV/10 sec Conditions d'exécution : 15 kV/1 500 sec • Jeu de filtres J6	

† Nous avons réalisé des études de validation pour le GlobalFiler™ Express Kit avec les configurations 3130xl, 3500, ou 3500xL.

Exigences des instruments de la 3130 Series (avant utilisation, effectuer la mise à jour HID, comme décrit dans le Guide de l'utilisateur)

Analyseur génétique	Système d'exploitation	Logiciel de collecte de données	Logiciel supplém-entaire	Modules et conditions d'analyse	Références
3500†	Windows Vista®	3500 Data Collection Software v1	HID Updater 3500 DC v2 (Part no. 4480670)	• Modèles de plaques : 6dye_36_POP4 • Dosages : GF+Norm_POP4 et GF_POP4 contenant le protocole d'instrument HID36_POP4_J6_NT3200 dans les conditions suivantes : – Module d'analyse : HID36_POP4 – Conditions d'injection : 1,2 kV/15 sec – Conditions d'exécution : 13 kV/1 550 sec – Jeu de filtres J6	*Applied Biosystems 3500/3500xL Genetic Analyzer User Guide* (Pub. no. 4401661) *HID Updater 3500 Data Collection Software v2 Release Notes*
3500xL†				• Modèles de plaques : 6dye_36_POP4_xl • Dosages : GF+Norm_POP4_xl et GF_POP4_xl contenant le protocole d'instrument HID36_POP4xl_J6_NT3200 dans les conditions suivantes : – Module d'analyse : HID36_POP4 – Conditions d'injection : 1,2 kV/24 sec – Conditions d'exécution : 13 kV/1 550 sec – Jeu de filtres J6	
3500† 3500xL†	Windows® 7	3500 Data Collection Software v2	HID Updater 3500 DC v2 (Part no. 4480670)	Identique au 3500 Data Collection Software v1 indiqué ci-dessus	*3500/3500xL Genetic Analyzer User Guide* (Pub. no. 4476988) *HID Updater 3500 Data Collection Software v2 Release Notes*

† Nous avons réalisé des études de validation pour le GlobalFiler™ Express Kit avec les configurations 3130xl, 3500, ou 3500xL.

Exigences des instruments de la 3730 Series (avant utilisation, activer la licence 6 filtres, comme décrit dans le Guide de l'utilisateur)

Analyseur d'ADN	Système d'exploitation	Logiciel de collecte de données	Logiciel supplémentaire	Modules et conditions d'analyse	Références
3730	Windows® 7	Data Collection Software 4	3030/3730 DC v4 6-Dye Module v1 (contacter Life Technologies)	• GeneMapper36_POP7_1 Conditions d'injection : 2 kv/10 sec Conditions d'exécution : 15 kV/1 200 sec • Jeu de filtres J6	*Applied Biosystems 3730/ 3730xl DNA Analyzer Getting Started Guide* (Pub. no. 4478016)

Réalisation d'une électrophorèse

Préparer les échantillons d'électrophorèse juste avant le chargement.

1. Calculer le volume de Hi-Di™ Formamide et la taille standard requis pour préparer les échantillons :

Réactif	Volume par réaction
GeneScan™ 600 LIZ® Size Standard v2.0	0,5 µl
Hi-Di™ Formamide	9,5 µl

Remarque : Inclure des échantillons supplémentaires dans vos calculs pour compenser les pertes subies pendant le transfert des réactifs.

IMPORTANT ! Le volume du standard de taille indiqué dans le tableau est une valeur suggérée. Déterminer la taille standard appropriée sur la base de vos résultats et expériences.

---

2. Pipeter le volume de composants requis dans un tube polypropylène de volume adapté.
3. Passer le tube au vortex, puis centrifuger brièvement.
4. Dans chaque puits d'une MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate, ajouter :
   - 10 µl de mélange formamide : mélange de taille standard
   - 1 µl de produit de PCR ou Échelle allélique

   Remarque : Pour les puits vides, ajouter 10 µl de Hi-Di™ Formamide.
5. Sceller la plaque PCR à l'aide des cloisons appropriées, puis centrifuger brièvement la plaque pour s'assurer que le contenu de chaque puits est mélangé puis collecté dans le fond.
6. Chauffer la plaque PCR dans un thermocycleur pendant 3 minutes à 95 °C.
7. Placer immédiatement la plaque sur la glace pendant 3 minutes.
8. Préparer la plaque sur le passeur d'échantillons.
9. Lancer l'électrophorèse.

Analyse des données

Pour configurer le GeneMapper® *ID-X* Software afin d'analyser les données, consulter le *GlobalFiler™ Express PCR Amplification Kit User Guide* (Pub. no. 4477672), le *GeneMapper® ID-X Software v1.4 New Features and Installation Procedures User Bulletin* (Pub. no. 4477684), ou le *GeneMapper® ID-X SoftwareVersion 1.0 Getting Started Guide* (Pub. no. 4375574).

Garantie limitée

Life Technologies Corporation et/ou ses filiales garantissent leurs produits comme décrit dans les Termes et conditions de vente généraux de Life Technologies, disponibles sur le site Web de Life Technologies à l'adresse **www.lifetechnologies.com/termsandconditions**. Si vous avez des questions, contacter Life Technologies à **www.lifetechnologies.com/support**.

Pour une utilisation dans le cadre médico-légal ou en paternité uniquement.

Les informations contenues dans ce guide peuvent être modifiées sans préavis.

AVIS DE NON-RESPONSABILITÉ : LIFE TECHNOLOGIES CORPORATION ET/OU SES FILIALES DÉCLINENT TOUTE GARANTIE EXPRESSE OU IMPLICITE CONCERNANT CE DOCUMENT, ET NOTAMMENT LES GARANTIES LIÉES À LA QUALITÉ MARCHANDE, L'ADAPTATION À UN USAGE PARTICULIER OU L'ABSENCE DE CONTREFAÇON. DANS LES LIMITES PRÉVUES PAR LA LOI, LIFE TECHNOLOGIES ET/OU SES AFFILIÉS NE POURRONT EN AUCUN CAS ÊTRE TENUS RESPONSABLES, AU TITRE D'UN CONTRAT, D'UNE ACTION FRAUDULEUSE, D'UNE GARANTIE OU À TOUT AUTRE TITRE LÉGAL, DES DOMMAGES SPÉCIAUX, ACCIDENTELS, INDIRECTS, PUNITIFS OU MULTIPLES LIÉS OU DÉCOULANT DU PRÉSENT DOCUMENT ET NOTAMMENT DE SON UTILISATION.

© 2012 Life Technologies Corporation. Tous droits réservés. Les marques de commerce mentionnées dans le présent document sont la propriété de Life Technologies Corporation et/ou de leurs affiliés ou de leurs propriétaires respectifs. Windows et Windows Vista sont des marques déposées de Microsoft Corporation.

Headquarters
5791 Van Allen Way | Carlsbad, CA 92008 USA | Phone +1 760 603 7200 | Toll Free in USA 800 955 6288
For support visit lifetechnologies.com/support

lifetechnologies.com

December 2012