



Protocole du fluorimètre Qubit

À utiliser avec le fluorimètre Qubit d'Invitrogen.

Note : Le tampon Qubit est sensible à la lumière. Conservez le tampon à l'abri de la lumière et évitez de le laisser à l'extérieur pendant de longues périodes. Plus le tampon est exposé à la lumière, moins les lectures Qubit sont précises. Les tests Qubit sont également sensibles à la température et les fluctuations de température peuvent influencer la précision du test. Si le tampon Qubit est réfrigéré, laissez-le revenir à température ambiante avant d'effectuer une lecture.

Matériel :

- Fluorimètre QuBit
- Centrifugeuse pour tubes
- Vortexeur
- Pipettes P10, P20, P200

Consommables :

- Tubes d'essai QuBit
- Embouts de pipette : P20, P200

Réactifs :

- Kit ADN Qubit à haute sensibilité

Protocole :

1. Dans un **endroit propre**, étiqueter un tube de dosage Qubit par échantillon à mesurer, ainsi qu'un tube chacun pour l'étalon 1 ("S1") et l'étalon 2 ("S2"). Éviter d'étiqueter le côté du tube de dosage (étiqueter plutôt le haut), car cela pourrait interférer avec les lectures optiques.
2. Ajouter 190µl de tampon Qubit dans le tube étiqueté "S1" et 190µL de tampon Qubit dans le tube "S2".
3. Ajouter 199µl de tampon Qubit à chaque tube d'échantillon.
4. Ajouter 10µl de l'étalon 1 au tube étiqueté "S1" et 10µl de l'étalon 2 au tube étiqueté "S2". Vortexer les deux tubes et les essorer.
5. Allumez le fluorimètre Qubit et sélectionnez *dsDNA > dsDNA High Sensitivity > Read Standards*.
6. Insérer le tube étiqueté "S1", fermer le couvercle et sélectionner *Read Standard*. Une fois la lecture terminée, remplacez le tube "S1" par le tube "S2", fermez le couvercle et sélectionnez *Read Standard*. Une fois cette opération terminée, le fluorimètre est calibré. Vous devez effectuer ce calibrage une fois chaque jour où vous utilisez le Qubit.
7. Prenez le(s) tube(s) d'échantillon avec le tampon ajouté dans l'espace post-PCR et ajoutez 1µl d'ADN d'échantillon dans chaque tube correspondant.
8. Insérez le premier tube d'échantillon dans le fluorimètre Qubit, sélectionnez *Run Samples*, réglez le volume d'échantillon sur 1µl et les unités de sortie sur ng/µl. Sélectionnez *Read Tube* et enregistrez les résultats. Répétez l'opération pour tous les échantillons.