

Instrukcja

RT PCR Mix Probe

Gotowa dwukrotnie stężona mieszanina do Real-Time PCR do użycia z sondami znakowanymi barwnikami fluorescencyjnymi.

numer katalogowy	wielkość
2008-200P	200 reakcji w 25 µl
2008-2000P	2000 reakcji w 25 µl

Produkt przeznaczony wyłącznie do badań naukowych.

Gwarancja

Firma A&A Biotechnology udziela gwarancji na niniejszy produkt.

Firma nie gwarantuje poprawnego działania produktu w przypadku:

- odstępstwa od dostarczonego wraz z produktem protokołu
- braku zalecanego w niniejszym protokole wyposażenia i materiałów
- użycia innych odczynników niż zalecane lub które nie wchodzą w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Opis

RT PCR Mix Probe jest gotową mieszaniną do Real-Time PCR do użycia z sondami znakowanymi barwnikami fluorescencyjnymi.

Mieszanina zawiera wszystkie składniki niezbędne do przeprowadzenia reakcji qPCR, poza matrycą DNA, starterami i sondami.

Stosowanie gotowych mieszanin PCR oszczędza czas i ogranicza niebezpieczeństwo zanieczyszczenia próbki przez zmniejszenie ilości kroków pipetowania i wymaganych w reakcji PCR.

Mieszanina jest zoptymalizowana pod kątem wydajnego i powtarzalnego qPCR.

Skład

	2008-200P	2008-2000P	przechowywanie
RT PCR Mix Probe	2 x 1,25 ml	20 x 1,25 ml	-20 °C
woda ultraczysta	2 x 1,5 ml	20 x 1,5 ml	-20 °C

Skład mieszaniny RT PCR Mix Probe

składnik	ilość
polimeraza DNA <i>Taq</i>	0,1 U/μl
MgCl ₂	10 mM
dNTPs	0,5 mM każdego z dNTP
2x bufor reakcyjny	

Uwagi

- Przed użyciem całkowicie rozmrozić w lodzie, delikatnie zworteksować i krótko zwirować.
- Cykliczne, siedmiokrotne rozmrażanie i zamrażanie nie wpływa na wydajność i aktywność produktu.

Proponowany protokół przygotowania reakcji qPCR

1. Rozmrozić składniki zestawu w lodzie, a następnie delikatnie zworteksować, krótko zwirować i wstawić ponownie do lodu.
2. Umieścić probówki reakcyjne PCR w lodzie i dodać kolejno:

składnik	objętość reakcji PCR		
	10 µl	25 µl	50 µl
RT PCR Mix Probe	5 µl	12,5 µl	25 µl
starter 1***	0,1-1 µM*	0,1-1 µM*	0,1-1 µM*
starter 2***	0,1-1 µM*	0,1-1 µM*	0,1-1 µM*
sonda***	0,05-0,1 µM**	0,05-0,1 µM**	0,05-0,1 µM**
matryca DNA, cDNA	10 pg-1 µg	10 pg-1 µg	10 pg-1 µg
woda ultraczysta, uzupełnić	do 10 µl	do 25 µl	do 50 µl

* zalecane dla standardowego qPCR

** ilość każdej sondy powinna zostać zoptymalizowana

*** końcowe stężenie w mieszaninie reakcyjnej

3. Mieszaninę reakcyjną delikatnie zworteksować i krótko zwirować.
4. Probówki umieścić w termocyklerze i uruchomić program.

Proponowany profil PCR:

etap	temperatura	czas
wstępna denaturacja	95 °C	2-3 min
25-45 cykli	95 °C 58-70 °C*	15-30 s 15-60 s**

* w zależności od temperatury przyłączania/wydłużania sond i starterów

** w zależności od długości produktu PCR i/lub ilości amplikonów w probówce

Zalecane mieszaniny ROX

HiROX (0,6-1 µl na 50 µl całkowitej objętości reakcji): Applied Biosystems: 7000, 7300, 7700, 7900HT Fast, StepOne, StepOnePlus.

LoROX (0,6-1 µl na 50 µl całkowitej objętości reakcji): Applied Biosystems 7500, Stratagene: Mx3000P, Mx3005P, Mx4000P.



A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science

A&A Biotechnology, ul. Strzelca 40, 80-299 Gdańsk
tel. 883 323 761, 600 776 268
info@aabiotech.com, www.aabiotech.com

