

## Instrukcja

# Multiplex PCR Mix Probe 4x

Gotowa czterokrotnie stężona mieszanina o podwyższonej czułości do real-time w technice hot-start PCR do użycia z sondami znakowanymi barwnikami fluorescencyjnymi.

| numer katalogowy | wielkość             |
|------------------|----------------------|
| 2017-2004PM      | 200 reakcji w 25 µl  |
| 2017-20040PM     | 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

**Multiplex PCR Mix Probe 4x** jest gotową mieszaniną o podwyższonej czułości do real-time w technice hot-start PCR do użycia z sondami znakowanymi barwnikami fluorescencyjnymi.

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

Polimeraza DNA *Taq* jest blokowana przeciwciałem monoklonalnym.

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

|                           | 2017-2004PM  | 2017-20040PM  | przechowywanie |
|---------------------------|--------------|---------------|----------------|
| <b>Multiplex Probe 4x</b> | 2 x 0,625 ml | 20 x 0,625 ml | -20 °C         |
| <b>woda ultraczysta</b>   | 2 x 1,5 ml   | 20 x 1,5 ml   | -20 °C         |

## Skład mieszaniny Multiplex Probe 4x

| składnik                               | ilość               |
|----------------------------------------|---------------------|
| modyfikowana polimeraza DNA <i>Taq</i> | 0,2 U/μl            |
| MgCl <sub>2</sub>                      | 20 mM               |
| dNTPs                                  | 1 mM każdego z dNTP |
| 4x bufor reakcyjny                     |                     |

## Uwagi

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

# Barwnik referencyjny ROX

Niektóre aparaty do PCR wykonują korekcję sygnału fluorescencji i zaleca się stosowanie barwnika referencyjnego ROX do normalizacji sygnału. Należy postępować zgodnie z instrukcjami producenta aparatu dotyczącymi dodawania barwnika referencyjnego ROX i jego stężenia.

## Proponowany protokół przygotowania reakcji qPCR

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

| składnik                    | objętość reakcji PCR |               |               |
|-----------------------------|----------------------|---------------|---------------|
|                             | 10 µl                | 25 µl         | 50 µl         |
| Multiplex Probe 4x          | 2,5 µl               | 6,5 µl        | 12,5 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.
- Próbówki umieścić w termocyklerze i uruchomić program.

Proponowany profil PCR:

| etap                        | temperatura        | czas                 |
|-----------------------------|--------------------|----------------------|
| wstępna denaturacja         | 95 °C              | 5 min                |
| 25-45 cykli<br>(2 step PCR) | 95 °C<br>58-70 °C* | 15-30 s<br>15-60 s** |

\* w zależności od temperatury przyłączania/wydłużania sond i starterów  
\*\* w zależności od długości produktu PCR i/lub ilości amplikonów w próbówce



# 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

wersja 2025-1

