

Instrukcja

qPCR-HS Mix EvaGreen®

Gotowa do użycia mieszanina o podwyższonej specyficzności do real-time PCR w technice Hot Start z barwnikiem EvaGreen®. Zawiera blokowaną przeciwciałem monoklonalnym polimerazę DNA Taq (RUN-HS). Produkt rekomendowany jest do analiz High Resolution Melting (HRM).

numer katalogowy	wielkość
2008HS-100G	200 reakcji w 25 µl
2008HS-1000G	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

EvaGreen® jest zarejestrowanym znakiem towarowym Biotium Inc.

Opis

qPCR-HS Mix EvaGreen® jest gotową do użycia mieszaniną o podwyższonej czułości do real-time PCR w technice Hot Start z barwnikiem EvaGreen®. Zawiera wszystkie składniki niezbędne do przeprowadzenia qPCR, z wyjątkiem matrycy DNA i starterów. Aktywacja blokowanej przeciwciałem monoklonalnym polimerazy RUN-HS zachodzi w trakcie wstępnej denaturacji w PCR. Produkt rekomendowany jest do analiz High Resolution Melting (HRM).

Skład

	2008HS-100G		2008HS-1000G		przechowywanie
	ilość	nr kat	ilość	nr kat	
2x qPCR-HS Mix EvaGreen® (qPCR-HS Mix EG)	2 x 1,25 ml	K-28G-125A	20 x 1,25 ml	K-28G-125A	-20 °C
woda ultraczysta	2 x 1,5 ml	K-WUP-15A	20 x 1,5 ml	K-WUP-15A	-20 °C

Uwagi

- Przed użyciem konieczne jest całkowite rozmrożenie i dokładne wymieszanie składników zestawu poprzez delikatne odwracanie probówki.
- Cykliczne, siedmiokrotne 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 qPCR

1. Do probówek reakcyjnych dodać kolejno:

	objętość	stężenie końcowe
składnik	25 µl	
2x qPCR-HS Mix EvaGreen®	12,5 µl	1X
starter 1 (10 µM)*	0,5 µl	0,2 µM
starter 2 (10 µM)*	0,5 µl	0,2 µM
matryca DNA	1-5 µl	< 250 ng/reakcja
woda ultraczysta	uzupełnić do 25 µl	

*W celu optymalizacji należy przeprowadzić miareczkowanie starterów w zakresie od 0,2 µM do 1 µM stężenia końcowego.

2. Mieszaninę reakcyjną delikatnie zworteksować i krótko zwirować.

3. Probówki umieścić w termocyklerze i uruchomić program.
Rekomendowany profil temperaturowo-czasowy:

etap reakcji	temperatura	czas	ilość cykli
wstępna denaturacja/ aktywacja enzymu	95 °C	5 min	1
denaturacja	95 °C	15 s	40
przyłączanie starterów*	50-68 °C	30 s	
wydłużanie**	72 °C	30 s	
krzywa topnienia***	60-95 °C	0,05 s 0,2 °C	1

* Temperatura przyłączania starterów zależy od sekwencji startera i składu mieszaniny.

** Czas wydłużania zależy od długości ampliconu.

*** Zaleca się wykonanie krzywej topnienia w celu potwierdzenia specyficzności reakcji i interpretacji analizy HRM.



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

