

One-Run RT Q-PCR Sistemi 2X

KATALOG NUMARALARI

18R-01-20 (20 TEST)

18R-01-100 (100 TEST)

GİRİŞ

One-run RT PCR kiti, RNA ve DNA ile ilgili PCR çalışmalarına uygun olarak hazırlanmıştır. RNA için Revers transkripsiyon aşamasında, RNaz H aktivitesini düşürmek amacı ile tasarlanmış M-MLV revers transkriptaz kullanılmaktadır.

Kit, DNA ile ilgili PCR çalışmalarına doğrudan cDNA sentez basamağı atlanarak kullanılmalıdır.

SİSTEMİN PRENSİBİ

RNA molekülü ile gerçekleştirilen PCR çalışmalarında, öncelikle komplementer DNA (cDNA) sentezine ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun için ters transkriptaz (Revers Transcriptase) enzimi ile RNA'nın kalıbı oluşturulmakta ve elde edilen cDNA direk PCR işleminde kullanılabilir. Kalıp olarak cDNA ve DNA'nın kullanıldığı 5' nükleaz testi için işlemin devamı Taq DNA polimerazın 5'exonuclease aktivitesine dayanmaktadır. Bu test için probun 5' ucunda bir reporter boya ve 3' ucunda da bir quencer boya bulunmaktadır. Quencer boya reporter boyanın ışımamasını baskılamakta aynı zamanda da probun primer gibi davranarak uzamasına engel olmaktadır. PCR esnasında enzim aktivitesi ile birlikte reporter ve quencer arasında bulunan prob parçalanarak ayrılır ve baskılanmanın ortadan kalkmasıyla ışımaya meydana gelir. Bu işlem sadece hedef bölge üzerinde hibridize olmuş problemlerde gerçekleşir. Amplifikasyon miktarı arttıkça, reporter boyanın açığa çıkmasıyla birlikte ışımaya doğrusal olarak artmakta ve bu artış cihaz tarafından eş zamanlı olarak tespit edilmektedir.

ÜRÜN ÖZELLİKLERİ

Kit içerisinde bulunan Reverse Transcriptase (M-MLV) 42-50°C'de, azaltılmış RNaz H aktivitesi ve 220 dakika yarılanma ömrü ile aktivite göstermektedir. HotStart Taq DNA Polimeraz enzimi, ısıya dayanıklılığı ve spesifikliği sağlayan Anti-Taq monoklonal antibodiler ve enzim bileşiminden oluşmaktadır. qPCR Reaction Miks her birinden 0.2 mM olmak üzere dNTP, Hotstart Taq DNA Polimeraz, Revers Transkriptaz ve 2.5 mM MgCl₂ içermektedir.

SİSTEM İÇERİĞİ

| Bileşen | 20 Test |
|-----------------------------|---------|
| • RT PCR Reaksiyon Miks | 200 µl |
| • PCR Grade Su** | - |
| • MgCl ₂ 25 mM** | - |

(*) Miks HotStart Taq DNA içeren kullanıma hazır miktardır.

(**) Opsiyonel kullanım için

SAKLAMA KOŞULLARI

- Tüm bileşenler – 20°C de ve karanlıkta saklanmalıdır.
- Tüm bileşenler, ürün kutusunun üzerinde belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.
- Sürekli eritip çözdürmek, ürünün hassasiyetinde azalmalara neden olabilir.

TAVSİYE EDİLEN PCR PROGRAMLARI

RNA için;

| | | |
|-------|--------|-------------|
| 42 °C | 30 dk. | |
| 96 °C | 1 dk. | |
| 96 °C | 5 sn. | 35-45 Döngü |
| 60 °C | 45 sn. | |

DNA için ;

| | | |
|-------|--------|-------------|
| 95 °C | 3 dk. | |
| 95 °C | 15 sn. | 35-45 Döngü |
| 60 °C | 1 dk. | |

TEST PROSEDÜRÜ

1 TEST İÇİN:

- 10 µl RT Reaksiyon miks
- Primerler (Forward ve revers primerin her birinden 10 pmol) (*)
- Prob 5 pmol (*)
- Toplam RNA/DNA 2 – 10 µl (1 – 100 ng) (*)
- Toplam Hacim 20 µl olacak şekilde PCR Grade su ilave edilir.
- Hafifçe pipetlenerek karıştırılır.
- Tavsiye edilen PCR programı ile çalıştırılır.

(*) Kit içeriğine dahil değildir. Konsantrasyonlar kullanıcıya ya da çalışmaya göre değişebilir.

UYARILAR

- Saklama koşullarına uygun olarak saklanmalıdır.
- Oda sıcaklığında unutulmuş PCR master miksleri kullanılmamalıdır.
- PCR master miksi oda sıcaklığında tamamen eritilip, baş aşağı edilerek hafifçe karıştırıldıktan sonra tüplere bölünmelidir.
- PCR master mikslerin raf ömrü 12 aydır. Kullanmadan önce üretim tarihine dikkat edilmelidir.
- Yalnızca in-vitro tanı amaçlı kullanılabilir.

Lütfen sorularınız için bizimle temasa geçin. tech@snp.com.tr

Düzenlenme Tarihi: 12.03.2017