

## EVA GREEN® ONE-RUN RT PCR KİT - 1X

### KATALOG NUMARALARI

70R-01-20 (20 TEST)

70R-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. cDNA sentezlendikten sonra 95 °C'de 10 dk bekletilerek Hotstart Taq DNA polimeraz aktive edilmektedir.

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.

### ÜRÜN ÖZELLİKLERİ

Kit içerisinde bulunan Reverse Transcripase (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 antikorlar ve enzim bileşiminden oluşmaktadır. qPCR Reaction Miks her birinden 0.2 mM olmak üzere dNTP ve 3 mM MgCl<sub>2</sub> içermektedir. Kit PCR inhibisyon özelliği düşük, kararlı yeni nesil bir DNA boyası olan EvaGreen® içermektedir. Bağlanmamış olan boya floresans olmamakla birlikte, çift iplikçikli DNA ile bağlandıktan sonra yüksek miktarda floresans yaymaktadır. Zehirli değildir ve mutajenik özellik göstermemektedir. Çalışma sonrası çoğaltılmış hedef DNA'ya bağlanan EvaGreen® boyası ile elde edilen erime eğrisi sayesinde spesifik hedef DNA'nın olup olmadığı analiz edilmektedir.

### SİSTEM İÇERİĞİ

Bileşen	20 Test
• RT PCR Reaksiyon Miks (1X)*	380 µl
• PCR Grade Su**	500 µl
• MgCl <sub>2</sub> 25 mM**	500 µl

(\*) 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.

### RNA VE DNA İÇİN TAVSİYE EDİLEN PCR PROGRAMLARI

#### RNA için;

50 °C	30 dk.	
95 °C	3 dk.	
95 °C	15 sn.	35-45 döngü
60 °C	1 dk.	

#### DNA için;

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

### TEST PROSEDÜRÜ

#### 1 TEST İÇİN:

- 19.0 µl qPCR Reaksiyon miks
- Primerler (Forward ve revers primerin her birinden 10 pmol) (\*)
- Toplam RNA 1 – 5 µl DNA (1 – 100 ng) (\*)
- Toplam Hacim 25 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](mailto:tech@snp.com.tr)

Düzenlenme Tarihi: 12.03.2012