



Elizyme™ OneS Kit

Účel použití:

Produkt je určen pouze pro vědecké účely, nikoliv pro diagnostické procedury.

Skladování:

Skladujte při -20 °C a vyhněte se dlouhotrvajícímu vystavování světelnému záření. Při dodržení těchto skladovacích podmínek si kity plně udrží svou aktivitu, dokud neuběhne expirační doba uvedená na kitu. Pokud mix již obsahuje RTázu, neskladujte jej.

Popis produktu

Elizyme™ OneS kit je uživatelsky přívětivé a univerzální řešení pro syntézu cDNA a PCR v jednom kroku. Díky jedinečnému systému pufrů, reverzní transkriptáze a hot-start polymeráze umožňuje specifickou a vysoce citlivou RT-PCR z jakéhokoli RNA vzorku.

Souprava obsahuje modifikovanou termostabilní reverzní transkriptázu a pokročilý inhibitor RNáz, který slouží k prevenci degradace RNA kontaminující RNázou. Termostabilní RTáza je vysoce aktivní a může snadno zpracovávat celkovou RNA (RTáza není inhibována ribozomální ani transferovou RNA). Protilátkou zprostředkovaná hot-start technologie zabraňuje tvorbě primer-dimerů a nespecifické amplifikaci, což vede k robustnímu výkonu RT-PCR s minimální optimalizací. Enzym je neaktivní do 65 °C a aktivuje se po dosažení teploty 95 °C.

Díky vysoce výkonnému screeningu byl systém pufrů optimalizován pro účinnou amplifikaci z templátů bohatých na GC a AT úseky, za standardních i zrychlených podmínek cyklování.

Obsah

	Kat. číslo	Obsah balení	Velikost balení
Elizyme™ OneS Kit	EZ4505	1×1.25 ml mix + 1×0.125 ml RTase	50 rxns
	EZ4510	2×1.25 ml mix + 2×0.125 ml RTase	100 rxns
	EZ4550	2×6.25 ml mix + 1×1.25 ml RTase	500 rxns

	Pufr/MIX	Obsah
Elizyme™ OneS Kit	2X mix	6 mM MgCl ₂ , 2 mM dNTPs

Doplňkový MgCl₂ není nutný. Složení pufru bylo optimalizováno pro maximalizaci úspěšnosti PCR.



Primery

Primery by měly mít teplotu tání okolo 60 °C. Zároveň by měly být navrhovány s ohledem na eliminaci tvorby primer-dimer komplexů a nespecifických produktů. Výsledná koncentrace primerů v reakci by se měla pohybovat mezi 0,2 μM a 0,6 μM.

PCR

RTáza obsahuje také inhibitor RNázy. U obtížných templátů lze výtěžnost reakce zvýšit snížením množství přidané RTázy. V tomto případě doporučujeme titraci (0,2X - 1X).

Pro většinu aplikací doporučujeme inkubaci při teplotě 45 °C po dobu 10 - 20 minut. Pokud oblasti zájmu obsahují vysokou sekundární strukturu, lze použít teplotu inkubace až 55 °C. U ampliconů nad 1 kb lze dobu inkubace prodloužit.

Pro experimentální stanovení optimální teploty annealingu doporučujeme provést teplotní gradient. Případně doporučujeme teplotu annealingu 55 °C a pokud jsou přítomny nespecifické produkty, teplotu zvyšovat v krocích po 2 °C.

Optimální extenze je dosažena při teplotě 72 °C. Optimální doba extenze závisí na délce ampliconu a složitosti templátu. Pro amplifikaci z eukaryotické DNA pro amplicony mezi 1 kb a 3 kb se doporučuje 15 sekund na kilobázi (kb).

Složení reakční směsi

Před použitím musí být mix rozmražený, krátce promíchaný a stočený.

Komponenty	50 μl reakce	Finální konc.
2X EliZyme™ OneS Kit MIX	25 μl	1x
Forward primer (10 μM)	2 μl	400 nM
Reverse primer (10 μM)	2 μl	400 nM
20X RTase	2.5 μl	1x
Templátová RNA	1 pg – 1 μg celkové RNA, > 0.01 pg mRNA	variabilní
PCR voda	Doplnit do 50 μl	

PCR protokol

Krok	Teplota	Čas	Cykly
Reverzní transkripce	45 – 55 °C*	10 min	1
Iniciace denaturace	95 °C	2 min	1
Denaturace	95 °C	10 s	
Annealing	60 – 65°C	10 s	40
Extenze	72 °C	15 – 60 s**	



* Pro většinu aplikací se doporučuje teplota 45 °C. 55 °C se doporučuje pro amplikony obsahující oblasti s vysokou sekundární strukturou.

**15 s/kb

Výrobce:

ELISABETH PHARMACON, spol. s r. o.

Rokycanova 4437/5, Brno-Židenice 615 00

info@elisabeth.cz | www.elisabeth.cz | tel.: +420 542 213 851



Katalogové číslo



Číslo šarže



Datum expirace



Skladovací podmínky (teplotní limity)



Výrobce



Počet reakcí v balení