



EliZyme™ Air OneS SuperProbe MIX

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. Nevystavujte mix častým změnám teploty a omezte manipulaci s ním při pokojové teplotě na dobu nezbytně nutnou.

Popis produktu

EliZyme™ Air OneS SuperProbe MIX je určen pro vývoj vzduchem sušitelných diagnostických testů a umožňuje spolehlivou detekci cílových sekvencí RNA a DNA pomocí qPCR. 4X koncentrovaný qPCR mix bez glycerolu obsahuje HS Taq polymerázu, dNTP, MgCl₂ a směs pomocných látek, které umožňují spolehlivé vysušení směsi vzduchem bez ztráty aktivity. Mix navíc obsahuje vylepšenou verzi EliZyme™ Reverzní transkriptázy a inhibitor RNázy EliZyme™ RiboProtect, což umožňuje formát mixu v jedné zkumavce.

Vzduchem sušitelná forma mixu dává možnost uživateli využívat všech výhod těchto kitů, jako je jednodušší skladování a logistika, nižší přepravní náklady a zvýšená stabilita testů při okolních teplotách. Mix poskytuje stejnou robustní výkonnost činidel a bezkonkurenční stabilitu jako mixy v tekutém stavu.

Obsah

	Kat. číslo	Obsah balení	Velikost balení
EliZyme™ Air OneS	EZ2210	5×1 ml mix	1000 rxns
SuperProbe Mix	EZ2250	5×5 ml mix	5000 rxns
	EZ2214	10×7 ml mix	14000 rxns

Proces sušení

Při sušení vzduchem je doporučovaný úbytek hmotnosti, označovaný jako úbytek při sušení (**LoD**), přibližně **70 %**, což má za následek, že vysušený gel obsahuje pouze 5–10 % vody.

LoD se vypočítá dle následujícího vzorce:

$$\text{LoD} = (W2-W3)/(W2-W1) \times 100 \%$$

přičemž **W1** je hmotnost zkumavky, **W2** je hmotnost produktu před sušením a **W3** je hmotnost vysušeného produktu.



Pokud jsou primery, sondy a případně ROX barva (v závislosti na přístroji) přidány před procesem sušení, měly by se použít zásobní roztoky o vysokých koncentracích, aby se do 4X směsi mohl přidat co nejmenší objem. Doporučujeme nepřekračovat objem o víc jak 1 µl. Větší objemy by k dosažení stejného procenta zbývající vody ve vysušeném produktu vyžadovaly delší dobu sušení a vyšší LoD.

Čas k dosažení požadované hodnoty LoD se může lišit v závislosti na použití různých přístrojů k sušení. Při 40 °C a čase 80–90 min, běžně dosahujeme LoD 70 ± 1 % při sušení 5 µl 4X EliZyme™ Air OneS SP mixu v 96jamkových destičkách nebo PCR zkumavkách a LoD 74,5 ± 0,5 % při sušení 6 µl 4X EliZyme™ Air OneS SP mixu včetně oligonukleotidů. V obou případech bylo množství zbývající vody přibližně 8 %.

Při prvním použití EliZyme™ Air OneS SuperProbe MIXu s konkrétním sušícím přístrojem doporučujeme měřit LoD ve vícero zkumavkách v pravidelných časových intervalech (např. po 60, 70, 80, 90 minutách), aby bylo možné stanovit nejlepší protokol pro dosažení LoD 70 ± 1 % nebo 74,5 ± 0,5 % v závislosti na mixu (bez nebo s oligonukleotidy) a použitým přístroji.

Primery

Primery by měly mít teplotu tání okolo 60 °C. Čím kratší je délka amplikonu, tím rychlejší jsou jednotlivé cykly. Doporučená délka amplikonu je mezi 80 bp až 200 bp. Délka amplikonu by neměla překročit 400 bp. U TaqMan® sondy zvolte sondu blízko 5' primeru, vyhněte se koncovým guanosinovým zbytkům.

Nastavení reakce

4X EliZyme™ Air OneS SP Mix musí být rozmražený a krátce promíchaný. Přidejte primery, sondy a případně ROX barvivo, mix poté rozdělte do jamek a spusťte proces sušení. Více informací naleznete v části Proces sušení.

Komponenty	20 µl reakce	Finální konc.
4x EliZyme™ Air OneS SP Mix	5 µl	1x
Forward primer (10–100 µM)	Variabilní*	400 nM
Reverse primer (10–100 µM)	Variabilní *	400 nM
Probe (10 – 100 µM)	Variabilní *	200 nM
ROX (50 µM)**	Variabilní *	Závisí na požadavcích přístroje.

* Celkový objem primerů, sond a ROX barviva by neměl překročit 1 µl.

** Volitelné, lze zakoupit samostatně.

PCR protokol

Krok	Teplota	Čas	Cykly
Reverzní transkripce	52 °C	5–20 min*	1
Aktivace polymerázy	95 °C	3 min	1
Denaturace	95 °C	15 s	
Annealing/Extenze	55–65 °C	30 s	40–50

Návod k použití EliZyme Air OneS Super Probe MIX



Melt curve analysis**

* 5–10 minut pro singleplex, 10–20 minut pro multiplex.

** Volitelné, pouze pro hybridizační sondy.

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