

Real-time-PCR Master Mix E2 (mit EvaGreen, dUTP und ROX)

Features:

- der Mastermix für die Real-Time PCR enthält dUTP statt dTTP
- UNG zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen liegt optimiert vor
- EvaGreen ist als interkalierender Farbstoff bereits enthalten
- der Mastermix E2 ist durch sein einzigartiges Puffersystem optimiert für Spezifität und Sensitivität
- er ist gebrauchsfertig gemischt und wird ready-to-use geliefert
- Der qPCR-Mastermix kann mit ROX als Referenz-Farbstoff (1x konzentriert) verwendet

Anwendung:

- Detektion und Quantifizierung von DNA und cDNA
- Gen-Expression profiling
- "Viral load"-Bestimmung
- Real-time PCR mit Block-Cyclern
- Standard PCR

Beschreibung:

Der Mastermix ist eine fertige Mischung aller Komponenten für eine erfolgreiche Realtime PCR. Nur Template-DNA und Primer werden zugegeben. Hohe Spezifität und Sensitivität werden durch eine hochaktive Hot-Start Polymerase und einen optimierten Puffersystem gewährleistet. Herausragend ist die kurze Deaktivierungszeit der Polymerase beim ersten Denaturierungsschritt. Es werden unspezifische PCR-Produkte vermieden. Anstatt dTTP wird dUTP verwendet, das bei der Behandlung mit UNG (Uracil-Glykosylase), bereits optimiert im Mastermix) Kreuzkontaminationen vorangegangener PCR-Ansätze verhindert. Der interkalierenden Farbstoff EvaGreen, das sehr stabil ist und keine inhibitorische Wirkung auf die PCR hat, liegt in einer optimalen Konzentration vor.

Konzentration: Der Mastermix ist 2-fach konzentriert

Kitbestandteile:

Hot-Start Polymerase für qPCR, dNTPs, EvaGreen, UNG, Reaktionspuffer mit KCl und MgCl₂, Stabilisatoren und Enhancern, "PCR-grade" Wasser

Transport: mit Kühllakkus

Lagerung: bei +4°C für 3 Monate; bei -20°C für mehr als 12 Monate. **Das Produkt vor Licht schützen**

Anwendung:

Komponenten	Volumen	Fin. Konz.
2X qPCR / RTD-PCR Master mix E1	25 µl	1x
Up-stream primer (10 µM stock)	1,5 µl (Bereich 0,5-2,5 µl)	300 nM
Down-stream primer (10µM stock)	1,5 µl (Bereich 0,5-2,5 µl)	300 nM
Template DNA	5 µl (0.1-15 ng/ml Plasmid DNA) (1-10 µg/ml genomische DNA)	< 500ng DNA
Steril. dest. Water (ist beinhaltet)	bis 50 µl	

Hinweis:

- Alle Komponenten vor dem Ansatz vortexen/gut mischen
- Reaktionsgemisch auf Eis ansetzen
- Möglicherweise ist es erforderlich die MgCl₂ zu optimieren

Standard Cycler-Protokoll:

Schritt	Zeit	Temperatur
UNG Behandlung	2 Min	50 °C
Erste Denaturierung	1-3 Min	94-95 °C
25-40 Zyklen: Denaturierung Annealing Extension	Sekunden 10-25 10-25 60	94-95 °C 45-70 °C 68-72 °C per 1kb
Schluss-Extension	30 / 500 bp	68-72 °C

Hinweis:

Bei der Arbeit mit EvaGreen wählen Sie einfach die optischen Einstellung für FAM oder SybrGreen

Bestellinformation:

Kat.-Nr	Beschreibung	Menge
S160	Real-time PCR Mastermix E2 (2x1,25ml)	100 rxs / 50µl