

## Polycarbonate Capillaries User Guide

### Sample preparation / PCR Mixture preparation

Samples for PCR can be handled and prepared according to the existing protocol at customer site. No changes have to be made using polycarbonate capillaries instead of the original glass capillaries from Hofmann La-Roche.

No changes have to be made preparing the PCR Mix.

The polycarbonate capillaries for PCR-reaction volumes from 10 µl to 50 µl can be used without significant changes in the PCR programme.

### Handling capillaries and caps

For better/easier handling of our capillaries and caps a “Transfer-Pin” for taking the capillaries and the caps out of the rack-box is provided. The Transfer-Pin is part of our “Starter-Kit”. Use gloves to protect you PCR-reaction from contamination, e.g. DNases.

For sealing the capillaries with the caps, use the transfer pin, to transfer caps from the rack-box to the polycarbonate capillary. Ensure that each capillary is closed tightly by checking it visually.

### Performing PCR / PCR programme

Our polycarbonate capillaries have a greater diameter, compared to the 20 µl glass capillaries from Roche.

To guarantee effective heat transfer from the outside of the capillaries to the middle of the PCR reaction, consider the greater diameter. It might be necessary to increase the “hold-times” at Denaturing and Annealing.

For this reason we recommend to program the Cyclor with longer hold times for the denaturing and annealing steps. We suggest to program at least 7 seconds at 95°C for the denaturing step and 5 seconds for the annealing step. Too short denaturing and annealing times will lead to a complete failure of your PCR, or at least to much higher CT-times.

If you are already using a programme with both times higher than 7 seconds, no changes have to be done, normally. Sometimes it might be better to increase the existing times by 2 seconds each.

As the effectiveness of denaturing is also depending on the GC-content of your DNA, it might be even better to prolong denaturing up to 10 seconds (only in case of no PCR signal with a denaturing time of 5 seconds).

#### Denaturing times at 95°C

	glass	PC-Cap..	glass	PC-Cap.	glass	PC-Cap.
Denaturing	0 sec	10 sec	5 sec	10-12 sec	> 7 sec	> 10 sec
Annealing	0 sec	10 sec	5 sec	10-12 sec	> 7 sec	> 10 sec
Extension	10 sec	10 sec	5 sec	10-12 sec	> 7 sec	> 7 s

#### Denaturing time at 97°C

	glass	PC-Cap.	glass	PC-Cap.	glass	PC-Cap.
Denaturing	0 sec	5 sec	5 sec	7-10 sec	> 7 sec	> 10 sec
Annealing	0 sec	10 sec	5 sec	10 sec	> 7 sec	> 10 sec
Extension	10 sec	10 sec	5 sec	5-8 sec	> 7 sec	> 7 s

Note: Longer denaturing times than 10-11 seconds brings no better result

*.. a good decision ..*

## Sample recovery after PCR

Some customer wants to analyse the PCR reaction on a gel. For that purpose the cap can be taken away from the capillary. The recovery of the sample is possible using pipettes with a 10 µl tip. In some cases the pipette tips are too broad (Sarstedt, AHN and other brands). In this case open the capillaries and spin the solution into a clean reaction tube.

For further info please have a look to our Web-Page: [www.geneon.net](http://www.geneon.net) or follow this link: [PC-Capillaries](#)

## Polycarbonatkapillaren – Anwenderinfo

### Bereitstellung der Probe / Herstellen der PCR Mischung

Die Probe mit der DNA für die PCR kann entsprechend einem bereits bestehenden Protokoll hergestellt werden. Gegenüber Glaskapillaren von Roche sind keine zusätzlichen Abläufe oder Punkte zu beachten.

Auch der PCR-Mix kann entsprechend bestehender Protokolle angefertigt werden.

Es ist möglich die Polycarbonatkapillaren für PCR Volumina von 10 µl bis 50 µl, ohne signifikante Änderungen am PCR-Programm, einzusetzen (für Details siehe auch den Punkt „PCR Programm“).

### Handhabung der Kapillaren und Deckel

Für die einfachere Handhabung stellt GENEON einen so genannten „Transferstift“ zur Verfügung (Teil des Starterkits). Mit dem Transferstift können die Kapillaren und Deckel aus der Rack-Box entnommen werden. Falls der Kunde gewohnt ist, ohne einen Transferstift zu arbeiten können sowohl Kapillaren als auch die Deckel mit den Fingern aus der Rack-Box genommen werden. Das sollte aber mit Einmalhandschuhen geschehen, um die PCR-Probe vor Verunreinigungen mit z.B. DNasen zu schützen.

Um die Kapillaren mit den Deckeln richtig zu verschließen, ist der Transferstift das richtige Werkzeug. Damit können die Deckel einfach aus der Rack-Box entnommen und auf die Kapillaren gesetzt werden. Zum richtigen Verschließen der Kapillaren bitte fest aufdrücken. Es ist visuell zu kontrollieren, ob der Deckel vollständig in der Kapillare sitzt.

### Durchführung der PCR / PCR Programm

Unsere Polycarbonatkapillaren haben einen etwas größeren Durchmesser verglichen mit den Glaskapillaren von Roche. Um trotz des größeren Durchmessers einen effektiven Temperaturübergang von der Außenseite der Kapillare bis zum Mittelpunkt der PCR Reaktion zu gewährleisten, kann es angeraten sein die „Hold-Zeiten“ beim Denaturierungs- und Annealingschritt zu verlängern.

Aus diesem Grund empfehlen wir die Zeiten für die Denaturierung und für das Annealing auf mindestens 7 Sekunden zu setzen. Zu kurze Denaturierungs- und Annealingzeiten führen dazu, dass keine PCR stattfindet, oder dass zumindest der CT Wert deutlich höher liegen kann.

Da die Effektivität der Denaturierung vor allem auch vom GC-Gehalt der Probe abhängt, können sogar noch längere Denaturierungszeiten von Vorteil sein. Falls kein PCR-Signal zu erkennen ist, kann die Denaturierungszeit versuchsweise um weitere 3 – 5 Sekunden erhöht werden.

### Denaturierungszeiten von LightCycler Polycarbonat Kapillaren bei 95 °C

	Glas	Polycarb.	Glas	Polycarb.	Glas	Polycarb.
Denaturierung	0 sec	10 sec	5 sec	10-12 sec	> 7 sec	> 10 sec
Annealing	0 sec	10 sec	5 sec	10-12 sec	> 7 sec	> 10 sec
Extension	10 sec	10 sec	5 sec	10-12 sec	> 7 sec	> 7 s

*.. a good decision ..*

Denaturierungszeiten von LightCycler Polycarbonat Kapillaren bei 97 °C						
	Glas	Polycarb.	Glas	Polycarb.	Glas	Polycarb.
Denaturierung	0 sec	5 sec	5 sec	7-10 sec	> 7 sec	> 10 sec
Annealing	0 sec	10 sec	5 sec	10 sec	> 7 sec	> 10 sec
Extension	10 sec	10 sec	5 sec	5-8 sec	> 7 sec	> 7 s

**Probenentnahme nach durchgeführter PCR**

Manche Kunden möchten die PCR-Reaktion auch auf dem Gel analysieren. Hierfür kann man den Deckel wieder von den Polycarbonatkapillaren abnehmen und das Reaktionsgemisch mit einer 10 µl Pipettenspitze aus der Kapillare entnehmen. Manche Pipettenspitzen (Sarstedt, AHN, und andere) haben eine zu dicke Spitze. In diesem Fall wird die Polycarbonatkapillare geöffnet, umgekehrt in ein Reaktionsgefäß gestellt und durch zentrifugieren das Reaktionsgemisch in das Reaktionsgefäß überführt.

Weitere Informationen erhalten Sie auf unserer Webseite: [www.Geneon.net](http://www.Geneon.net) oder nutzen Sie diesen Link:

[PC-Kapillaren](#)

*.. a good decision ..*