

REF M125



Singleplex Master Mix qPCR 2X para sondas

100 reacciones

Uso en Investigación *In Vitro*

Descripción

La Singleplex Master Mix qPCR 2X para sondas (M125) ha sido formulada para contener todos los componentes necesarios para llevar a cabo una Real Time PCR. Solo es necesario agregar la sonda-primers específicos y el ADN templado, lo cual facilita el pipeteo por el usuario, minimizando los riesgos de contaminación y reduciendo los tiempos de reacción. Esta Master Mix 2X incluye un buffer optimizado, sales de magnesio, dNTPs y Taq ADN polimerasa, los cuales se encuentran en una concentración óptima para lograr una eficiente amplificación por qPCR. **No contiene ROX.** La concentración final de $MgCl_2$ es de 1,5 mM. Esta Master Mix está formulada para emplearse **exclusivamente con sondas fluorescentes en un formato singleplex.**

Componentes del kit

Catálogo	M125-100
Cantidad de reacciones	100
Singleplex qPCR 2X, vial (M125)	1 x 1 ml
Agua ultrapura libre de nucleasas, vial (A0103)	1 x 1,5 ml

Materiales necesarios NO provistos

- Primers y sondas fluorescentes
- Tubos, placas o strips para Real Time PCR
- Microtubos de PCR
- Micropipetas
- Tips con filtro (DNasas y RNasas free)
- Termociclador Real Time PCR
- ADN templado

Conservación

Una vez recibido conservar los componentes **en freezer a -20°C**. Se recomienda evitar sucesivos congelamientos y descongelamientos.

IMPORTANTE

- **Durante todo el proceso de preparación del cocktail de reacción, mantener los componentes en hielo.**
- Designar un área en el laboratorio para trabajar con los componentes del cocktail, separada del área de cargado del templado y de la PCR.
- Evitar contaminaciones lavando las mesadas con lavandina al 10% por 10 min y luego con etanol al 70%.
- Recomendamos emplear tips con filtro.
- Las sondas fluorescentes deben protegerse de la luz.
- Emplear guantes de nitrilo que no contienen polvo, el cual puede afectar los sistemas ópticos de los equipos de Real Time.
- No abrir los tubos o placas una vez finalizada la amplificación.
- Esta Master Mix no contiene ROX, tener en cuenta al momento de configurar el equipo.

Protocolo

1. Descongelar la Singleplex qPCR 2X y mezclarla suavemente por inversión.
2. Preparar los reactivos para la reacción.
3. Preparar la mix en un microtubo de PCR, adicionando todos los componentes (ver Tabla 1) excepto el ADN templado. Homogeneizar con la pipeta (up/down) cuidando de no hacer burbujas. No usar vortex. Dar un spin en la microcentrífuga.

Tabla 1.

Reactivo	Volumen final (20 μ l)	Concentración final
Singleplex qPCR 2X para sondas <i>Highway</i>	10 μ l	1X
Primer Forward ^a	Variable	0,1-0,5 μ M
Primer Reverse ^a	Variable	0,1-0,5 μ M
Sonda ^a	Variable	0,1-0,3 μ M
ROX (opcional)	Según equipo	
ADN templado (agregar en paso 5)	1-5 μ l	< 250 ng
Agua ultrapura libre de nucleasas <i>Highway</i>	c.s.p 20 μ l	-

^aLa concentración de los primers y sonda en la mezcla va a depender de la puesta a punto de la técnica.

4. Alicuotar la mix en microtubos o placa de 96 pocillos para qPCR.
5. Agregar el ADN (o agua en el caso del control sin templado).
6. Darle un spin a los tubos o placas para eliminar cualquier burbuja.
7. Configurar el equipo Real Time según la Tabla 2:

Programa de termociclado^b

Tabla 2.

Paso	Temperatura	Tiempos	Número de ciclos
Desnaturalización inicial	95°C	2-3 minutos	1
Desnaturalización	95°C	15 segundos	40-45 ciclos
Annealing y extensión	60°C	30-60 segundos	

^b**Nota importante:** Este es un programa de termociclado sugerido, los tiempos de annealing y extensión se deberán ajustar al tamaño del amplicón. Además la temperatura de annealing deberá setearse según la T_m de los primers (55-65°C). La temperatura de extensión a 72°C suele ser más eficiente, pero dependerá también de la reacción de PCR.

Temperatura de transporte: 4 a 15°C hasta 72 horas

Una vez recibido conservar a -20°C

Inbio Highway S.A.

Serrano 1414 (7000) Tandil | Prov Bs. As. | Argentina

Tel. +54 249 4420193

contacto@inbiohw.com.ar

www.inbiohw.com.ar

Directora técnica: Dra. Yanil R. Parma. Bioquímica

Habilitado por ANMAT

PRODUCIDO EN ARGENTINA 