



EliZyme™ Lyo Super Probe 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™ Lyo Super Probe MIX je speciálně navržený pro přesnou a spolehlivou detekci cílové DNA pomocí qPCR a je zvláště vhodný pro vytváření lyofilizovaných diagnostických testů. 4X koncentrovaný mix bez glycerolu obsahuje hot-start Taq DNA polymerázu, dNTP, MgCl₂ a kombinaci pomocných látek, které zajišťují spolehlivou lyofilizaci bez ztráty aktivity. Mix je vhodný pro lyofilizaci do kuliček nebo koláčů.

EliZyme™ Lyo Super Probe MIX je kompatibilní se sondami, jako jsou TaqMan®, Scorpions® a molekulární majáky. Byl optimalizován pro lyofilizaci a poskytuje tak výhody, jako je skladování při pokojové teplotě, prodloužená doba použitelnosti a větší flexibilita v objemu vzorku. Souprava po lyofilizaci dává stejně přesné a spolehlivé výsledky jako standardní EliZyme™ Super Probe MIX.

Obsah

	Kat. číslo	Obsah balení	Velikost balení
EliZyme™ Lyo Super Probe Mix	EZ1910	5×1 ml mix	1000 rxns
	EZ1950	5×5 ml mix	5000 rxns
	EZ1914	10×7 ml mix	14000 rxns

Postup lyofilizace

1. Před zahájením lyofilizace rozmrazte a krátce promíchejte zkumavku nebo lahvičku s mixem 4X EliZyme™ Lyo SP.
2. Přidejte primery a sondy do mixu 4X EliZyme™ Lyo OneS SP a poté spusťte cyklus lyofilizace. Doporučujeme naředit směs s výše uvedenými složkami a vodou na 1x nebo 2x, aby se usnadnil proces lyofilizace. Směs má následující kritické teploty: teplota počátku kolapsu (T_c), kdy směs začíná ztrácet své původní fyzikální vlastnosti: -35,1 °C, teplota počátku skelného přechodu (T_g): 68,9°C, střední bod T_g: 75,1°C a koncový bod T_g: 81,3°C.



Následující podmínky byly testovány ve skleněných 2ml zkumavkách obsahujících 500 µl 4X EliZyme™ Lyo SP mixu. Při použití standardních PCR zkumavek a destiček bude zapotřebí kratší doba sušení. V závislosti na lyofilizačním přístroji může být nutná další optimalizace.

Fáze	Krok	Teplota (°C)	Čas (min)	Tlak (µBar)	Popis
Zmrazení	-	+2 to +6	N/A	Atmosférický	Nanesení
	1	+5	10	Atmosférický	Inkubace
	2	-50	110	Atmosférický	Ramp (0.5 °C/min)
	3	-50	180	Atmosférický	Inkubace
Fáze primárního sušení	4	-45	10	30	Ramp (0.5 °C/min)
	5	-45	5400	30	Inkubace
Fáze sekundárního sušení	6	+20	130	30	Ramp (0.5 °C/min)
	7	+20	600	30	Inkubace
Konec cyklu	-	+20	N/A	Poloviční atmosférický	Odvětrání pomocí N ₂
	-	+20	N/A	Poloviční atmosférický	Uzavření
	-	+20	N/A	Atmosférický	Zavzdušnění

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

Pro otestování mixu (získaného po 2. kroku lyofilizace) si připravte mastermix dle následující tabulky.

Komponenty	20 µl reakce	Finální konc.
4x EliZyme™ Lyo SP Mix	5 µl	1x
Forward primer (10 µM)	0.8 µl	400 nM
Reverse primer (10 µM)	0.8 µl	400 nM
Probe (10 µM)	0.4 µl	200 nM
Templátová DNA	<100 ng cDNA, <1 µg genomické DNA	Variabilní*
PCR voda	Doplnit do 20 µl	

* Přidáním 2 až 5 µl vzorku se zvýší přesnost reakce.



PCR protokol

Krok	Teplota	Čas	Cykly
Aktivace polymerázy	95 °C	3 min	1
Denaturace	95 °C	5-15 s	40-50
Annealing/Extenze	55-65 °C	20-30 s	
Melt curve analysis**			

* 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