



# RTA<sup>®</sup> DNA qPCR Probe Master Mix

## Kullanma Kılavuzu

Yayın Tarihi -- 2012-01

DNA'nın gerçek zamanlı tayini ve miktar ölçümü için

Yalnızca profesyonel kullanım için

**REF**

09030025 – 25 test

09030100 – 100 test

09030500 – 500 test



RTA



## İçindekiler

Kit İçeriği .....	4
Saklama Koşulları ve Dayanıklılık .....	4
Ürün Tanımı .....	5
Kullanım Amacı .....	5
Ürün Kullanım Limitleri .....	5
Uyarılar ve Önlemler .....	6
Gerekli Diğer Malzemeler .....	7
Protokol .....	8-9

## Kit İçeriği

Sađlanan Malzeme	Miktar		
	25 test	100 test	500 test
RTA qPCR Karışımı	160 µl	640 µl	5 x 640 µl
PZR Derecesinde Su	1000 µl	1000 µl	5 x 1000 µl
Kullanma kılavuzu	1	1	1

## Saklama Koşulları & Dayanıklılık

RTA qPCR Probe Master Mixin tüm içeriği -20°C'de saklanmalıdır. Daha yüksek sıcaklıklarda saklamaktan (örneğin +4°C) kaçınılmalıdır. Bu koşullar altında kit içeriği, etiket üzerinde belirtilen son kullanma tarihine kadar saklanıp kullanılabilir. Solüsyonlar iki kereden fazla dondurulup çözdürülmemelidir; aksi halde kitin kullanım ömrü kısılır. Çalışma adımları süresince tüm solüsyonlar buzda tutulmalıdır.

## **Ürün Tanımı**

RTA DNA qPCR Probe Master Mix nicel, gerçek zamanlı DNA tayin analizleri yapabilmek için gerekli tüm solüsyonları (primerler, probalar ve kalıplar hariç) içeren kullanıma hazır bir ana karışımdır. RTA DNA qPCR Probe Master Mix, DNA'nın gerçek zamanlı tayini ve miktar ölçümü için kullanılabilir.

## **Kullanım Amacı**

RTA DNA qPCR Probe Master Mix DNA'nın gerçek zamanlı tayini ve miktar ölçümü için kullanılır. Ayrıca gen ekspresyonu analizi, mikrobiyal tayin ve viral yük belirleme gibi amaçlar için de kullanılabilir.

## **Ürün Kullanım Limitleri**

Güvenilir sonuçlar örneğin doğru toplanmasına, taşınmasına, muhafaza edilmesine ve işlem metodlarına bağlıdır.

İyi eğitilmiş personel tarafından profesyonel kullanım için tasarlanmıştır.

Optimum PZR sonuçları için kullanım kılavuzundaki direktiflere sıkı bir şekilde uyulmalıdır.

Kullanım süresi dolan kitler kullanılmamalıdır. Farklı lotlara ait kitlerin bileşenleri karıştırılmamalıdır.

## Uyarılar ve Önlemler

RTA DNA qPCR Probe Master Mixin tüm içeriğini -20°C'de saklayınız. 4°C'de ya da oda sıcaklığında bırakmayınız ve saklamayınız. Çalışma adımları süresince tüm solüsyonları buzda tutunuz.

Kullanılmayan kimyasallar, atıklar ve örnekler ülke ya da bölgesel düzenlemelere uygun olarak ortadan kaldırılmalıdır.

Ağızla pipetleme yapmayınız. Çalışma alanında herhangi bir şey yemeyiniz, içecek ya da sigara içmeyiniz.

Deri, gözler ve mukoz membranların kimyasallarla temasından kaçınınız. Eğer temas gerçekleşirse, vakit kaybetmeden bolca su ile yıkayınız.

İşlemler kontaminasyonu engellemek amacıyla dört ayrı alanda gerçekleştirilmelidir (örneğin Nükleik Asit ekstraksiyonu, PCR kurulumu, örnek eklenmesi ve çoğaltım alanı olarak). Özel bir işlem için gerekli olan tüm elemanlar, işlemin gerçekleştirileceği alanda bulundurulmalı ve farklı alanlar arasında taşınmamalıdır. Bir alandan diğerine geçileceği zaman eldivenler değiştirilmeli ve çıkarılan eldivenler alanı terketmeden önce atılmalıdır. Laboratuvar önlükleri çalışılan alana özel olmalı ve o alanın dışında giyilmemelidir. Çalışma akışı ekstraksiyon alanı ile başlayarak daha sonraki işlemleri takip edecek şekilde tek yöne doğru olmalıdır.

Tüm pipetleme araçları ve cihazları dikkatli bir şekilde kullanınız ve üreticinin kalibrasyon ve kalite kontrol talimatlarına uyunuz; örnek kontaminasyonunu engellemek için, yeni, steril hava bariyerli ya da pozitif boşluklu RNaz/DNazsız pipet uçları ve steril pipetler kullanınız.

Örnek ve kontroller arasında çapraz kontaminasyondan korunmak için örnek ya da kontrol içeren tüm materyalleri İyi Laboratuvar Pratikleri'ne uygun olarak kullanınız. Kit'i kontaminasyon yaratabilecek herhangi bir DNA ya da RNA, özellikle amplifiye nükleik asit kaynağından uzakta saklayınız.

Kimyasalları farklı lot numaraları ya da diğer üreticilerin kimyasalları ile karıştırmayınız. Son kullanma tarihi geçmiş kitleri kullanmayınız.

## **Gerekli Diğer Malzemeler**

- Gerçek-zamanlı PZR sistemi
- Sekans belirleme primerleri
- Prob
- Tek-kullanımlık pudrasız eldivenler
- Mikropipetler (0.5 µl – 1000 µl)
- Steril filtrelili mikropipet uçları
- Mikrosantrifüj tüpleri
- Vorteks
- 2.0 ml tüpler ve PZR strip tüpleri için masaüstü mikrosantrifüj
- Gerçek-zamanlı PZR reaksiyon tüpleri/plakaları/kapillerleri
- PZR çalışma istasyonu

## Protokol

### 1. Adım: Ana Karışımın Hazırlanması

Tüm bileşenleri oda sıcaklığında çözünüz, her birini iyice karıştırınız, kullanmadan önce hafifçe santrifüj ediniz ve buza ya da soğutma bloğuna alınız. Aşağıdaki şekilde PZR reaksiyon karışımını hazırlayınız:

İlk olarak kalıp olmadan ana karışımı hazırlayınız. Ana karışımı hazırladıktan sonra baloncuk oluşturmadan hafifçe karıştırınız, reaksiyon tüplerine alikotlayınız ve son olarak her reaksiyon tüpüne 5 µl kalıp ekleyiniz.

Reaktifler	Hacim	Son konsantrasyon
RTA qPCR Mix	6.2 µl	
PCR forward primer	X µl	100-1000 nM
PCR reverse primer	X µl	100-1000 nM
Prob	Y µl	50-500 nM
PZR derecesinde su	15 µl'ye kadar ekleyiniz.	
Kalıp <sup>a</sup>	5 µl	
<b>Toplam Reaksiyon Hacmi</b>	<b>20 µl</b>	

<sup>a</sup> Kalıbın son konsantrasyonu solüsyondaki hedef kalıbın kopya sayısına göre değişiklik gösterir. En uygun miktar, seri dilüsyonlar yapılarak belirlenmelidir. 100 ng'dan daha az miktarda kalıp DNA kullanılması önerilir.



## Protokol (devam)

### 2. Adım: Termal Döngü Cihazının Programlanması

Program Adı	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süre
Hot Start	1	95°C	10 dk.
Amplifikasyon <sup>a</sup>	40-45	95°C	30 sn.
		50-70°C <sup>b</sup>	1 dk.
		72°C	30 sn.
Soğutma		40°C	30 sn.

<sup>a</sup> Floresans 72°C'de ya da bağlanma sıcaklığında ölçülür.

<sup>b</sup> Kullanılan primer seti için uygun bir bağlanma sıcaklığı belirleyiniz.





## **RTA Laboratuvarları**

Biyolojik Ürünler İlaç ve Makine San. Tic. Ltd. Şti.

Cumhuriyet Cad. No:3 GEPOSB 41400 Gebze / Kocaeli / Türkiye

Tel: 0262 648 5300

Faks: 0262 751 0677

E-posta: [info@rtalabs.com.tr](mailto:info@rtalabs.com.tr)

Web: [www.rtalabs.com.tr](http://www.rtalabs.com.tr)

RTA.BR.013 Revizyon Tarihi/Revizyon No:04.05.2012/2