



## ONE-RUN RT-qPCR SİSTEMİ

**Kat. No:** DZRTQ1(100 Test) – DZRTQ5 (500 Test) - DZRTQ10 (1000 Test)

### GİRİŞ

*One-run* RT-qPCR sistemi, kullanıma hazırdır ve tüm revers transkripsiyon PCR çalışmalarına uygun olarak tasarlanmıştır. Revers transkripsiyon aşamasında, RNaz H aktivitesini düşürmek amacı ile tasarlanmış M-MLV revers transkriptaz kullanılmaktadır. cDNA sentezlendikten sonra 95 °C'de 10 dk bekletilerek Hot-start Taq DNA polimeraz aktive edilmektedir.

### TEST SİSTEMİNİN PRENSİBİ

RNA molekülü ile gerçekleştirilen PCR çalışmalarında, öncelikle komplementer DNA (cDNA) sentezine ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun için ters transkriptaz (Revers Transcriptase) enzimi ile RNA'nın kalıbı oluşturulmakta ve elde edilen cDNA direk PCR işleminde kullanılabilir. 5' nükleaz testi için İşlemin devamı Taq DNA polimerazın exonuclease aktivitesine dayanmaktadır. Bu test için probun 5' ucunda bir reporter boya ve 3' ucunda da bir quencer boya bulunmaktadır. Quencer boya reporter boyanın ışımını baskılamakta aynı zamanda da probun primer gibi davranarak uzamasına engel olmaktadır. PCR esnasında enzim aktivitesi ile birlikte reporter ve quencer arasında bulunan prob parçalanarak ayrılır ve baskılanmanın ortadan kalkmasıyla ışım meydana gelir. Bu işlem sadece hedef bölge üzerinde hibridize olmuş problemlerde gerçekleşir. Amplifikasyon miktarı arttıkça, reporter boyanın açığa çıkmasıyla birlikte ışım doğrusal olarak artmakta ve bu artış cihaz tarafından eş-zamanlı olarak tespit edilmektedir.

### ÜRÜN ÖZELLİKLERİ

Sistem içerisinde bulunan Reverse Transcripase (M-MLV) 42-50°C'de, azaltılmış RNaz H aktivitesi ve 220 dakika yarılanma ömrü ile aktivite göstermektedir. HotStart Taq DNA Polimeraz enzimi, ısıya dayanıklılığı ve spesifikliğı sağlayan Anti-Taq monoklonal antibodiler ve enzim bileşiminden oluşmaktadır. qPCR Reaction Miks her birinden 0.2 mM olmak üzere dNTP ve 2 mM MgCl<sub>2</sub> içermektedir.

### SİSTEM İÇERİĞİ

| No | Bileşen                  | 2 x 50 test | 10x50 test   |
|----|--------------------------|-------------|--------------|
| 1  | qPCR Reaksiyon Miks (2x) | 2 x 1000 µl | 10 x 1000 µl |
| 2  | RT/Hot Start Taq Miks    | 25 µl       | 125 µl       |
| 3  | 25 mM MgCl <sub>2</sub>  | 500 µl      | 2000 µl      |
| 4  | PCR Grade Su             | 1500 µl     | 5 x 1500 µl  |

### SAKLAMA KOŞULLARI

- Tüm bileşenler – 20 °C de ve karanlıkta saklanmalıdır.
- Tüm bileşenler, ürün kutusunun üzerinde belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.
- Sürekli eritip çözdürmek, sistemin hassasiyetinde azalmalara neden olabilir.

### CDNA VE PCR İÇİN TAVSİYE EDİLEN PCR PROGRAMI

|       |        |             |
|-------|--------|-------------|
| 42 °C | 30 dk. |             |
| 95 °C | 10 dk. |             |
| 95 °C | 15 sn. | 35-40 döngü |
| 60 °C | 1 dk.  |             |

### TEST PROSEDÜRÜ

- 12.5 µl qPCR Reaksiyon miks
- Primerler (Forward ve revers primerin her birinden 10 pmol) (\*)
- Prob 2,5 pmol (\*)
- RT/Hot Start Taq miks 0,25 µl
- Toplam RNA 1 – 5 µl DNA (1 – 100 ng) (\*)
- Toplam Hacim 25 µl olacak şekilde PCR Grade su ilave edilir.
- Hafifçe pipetlenerek karıştırılır.
- Tavsiye edilen PCR programı ile çalıştırılır.

**(\*) Sistem içeriğine dahil değildir. Konsantrasyonlar kullanıcıya ya da çalışmaya göre değiştirilebilir.**

### UYARILAR

- Tüm kit bileşenleri tavsiye edilen sıcaklıkta saklanmalıdır.
- qPCR Reaksiyon miks, oda sıcaklığında eritilmeli, kullanmadan önce baş aşağı karıştırılmalıdır.
- Belirtilenden fazla miktarda enzim kullanılması sonucu olumsuz etkileyebilmektedir.
- Kit içeriğinde bulunan tüm solüsyonlar vücut içinde kullanıma uygun değildir. Sadece vücut dışı test sistemi olarak kullanılır.
- Kitin raf ömrü 12 aydır.

DR.ZEYDANLI tarafından üretilmiştir.

**Oğuzlar Mh. 1392. sok. 21/2 Balgat-Ankara/Türkiye Tel:**

**+90 3122858540 Fax: +90 3122858541**

[www.drzeydanli.com.tr](http://www.drzeydanli.com.tr) - [info@drzeydanli.com.tr](mailto:info@drzeydanli.com.tr)