Owi Green FAST qPCR Premix

Suivez ces 3 étapes suivantes pour réussir votre test

Références : 258494

POUR LA RECHERCHE UNIQUEMENT

1. Choisissez le colorant de référence ROX le plus approprié pour votre machine QPCR.

Deux colorants de référence ROX différents sont fournis dans le kit. Veuillez-vous référer au tableau ci-dessous pour plus de détails sur l'utilisation de Rox Dye :

Types de ROX	Instruments qPCR
Pas de ROX	Série Bio-Rad iCycler™, série Roche LightCycler® Séries Qiagen/Corbett et autres
ROX Colorant de référence I	Biosystèmes™ appliqués 7000/7300/7700/7900HT, Biosystèmes™ appliqués StepOne™/StepOnePlus™ Eppendorf et autres
ROX Colorant de référence II	Applied Biosystems™ 7500/7500Fast, ABI ViiA™ 7, Applied Biosystems™ QuantStudio™, série Stratagene, Corbett Rotor-Gene® 3000P™ et autres

2. Préparer le mélange réactionnel qPCR : utiliser 0,2 µM de chaque amorce pour le premier essai.

Réactif	Volume	Concentration finale
2X Owi Green FAST qPCR Premix	10 µL	1 fois
Amorce avant (10 µM)	0,4 µL	**0,2 µM**
Amorce inversée (10 µM)	0,4 µL	**0,2 µM**
Matrice d'ADN (< 50 ng)	≤ 2 µL	< 50 ng / rxn
50X ROX I ou 50X ROX II (en option)	0,4 µL	1 fois
Sans nucléase ddH2O	jusqu'à 20 µL	jusqu'à 20 µL

3. Préparer le programme qPCR :

Étape 1	Pré-dénaturation	1 cycle	95 °C	**3 min.**
Étape 2	Cycles	40-45 cycles	95 °C	5 sec.
			60 °C	**30 à 34 sec.***
Étape 3	Courbe de fusion	1 cycle	Défaut	

** Assurez-vous que l'acquisition du signal est effectuée pendant l'étape d'extension. Le temps d'extension doit être ajusté en fonction du temps minimum d'acquisition du signal, qui dépend de l'instrument qPCR que vous utilisez. **Par exemple, réglé sur 30 s pour StepOne Plus™, 31 s pour ABI 7300 et 34 s pour ABI 7500.***

Une remarque supplémentaire pour les petits volumes de réaction (ex. 10 µl) : 2X **Owi Green FAST qPCR Premix** contient du glycérol. Mélangez doucement avant utilisation, en évitant les bulles, et centrifugez pour recueillir tout le volume de prémélange au fond du tube.

§ Les « cibles difficiles » nécessitent souvent une optimisation du protocole. Nous vous recommandons d'inclure des gènes standard bien connus pour votre premier test. N'hésitez pas à contacter notre service technique si vous avez besoin de conseils supplémentaires pour les cibles difficiles.