

Q-PLUS™-Probe Real Time qPCR Master Mix (2x)

Ordering Info

TBK0070, 5 reactions (sample)	TBK0072, 400 reactions	TBK0074, 1000 reactions
TBK0071, 200 reactions	TBK0073, 500 reactions	

Description

Q-PLUS™-Probe Real-Time qPCR Master Mix (2X) is an optimized master mix designed for use in real-time quantitative PCR. The kit includes a qPCR master mix presented as a 2× reaction mixture. This mix incorporates all essential components for real-time PCR, including dNTPs, stabilizers, and enhancers, designed for the efficient amplification and detection of DNA in qPCR based on a wide range of probe-based technologies, including Taqman®, Molecular Beacons® and Scorpion probes®. This kit also includes a separate vial of ROX that can be optionally added to the qPCR reaction Mix. The final concentration of ROX will vary depending on each real-time cycler manufacturer's specification.

Features

- Ready to use.
- Enhanced specificity and sensibility, amplifies low copy number targets with reduced non-specific.
- Compatible with fast and standard PCR program.
- High Efficiency in multiplex reactions.

ROX Reference Dye

The passive reference dye ROX is necessary for certain real-time PCR machines as it compensates for non-PCR-related variations in fluorescence detection. The fluorescence emitted from the ROX dye remains constant throughout the real-time PCR process, providing a stable baseline against which PCR-related fluorescent signals can be normalized. As a result, the ROX dye can compensate any differences in fluorescence detection between wells that may arise from slight variations in reaction volume or differences in well position.

Depending on your equipment, prior to use for the first time, add 18 µL ("High ROX") of the ROX reference dye to the 1 mL Q-PLUS™-Probe Real Time qPCR Master Mix, (2x) and vortex briefly. Once ROX has been added, the Master Mix can be used directly or stored at -20°C for up to 1 year.

Kit Components

Components	TBK0071	TBK0072	TBK0073	TBK0074
Q-PLUS™-Probe Real Time qPCR Master Mix (2x)	2 x 1 mL	4 x 1 mL	5 x 1 mL	10 x 1 mL
PCR Grade Water	2 mL	2 x 2 mL	3 x 2 mL	5 x 2 mL
ROX Reference Dye	1 vial	1 vial	1 vial	2 vial

Order Info Kit Components: ROX Reference Dye (TBR0278) | PCR Grade Water, nuclease free (TBB0303).

Storage

Shipped on blue ice. Upon receipt, kit components should be immediately stored at -20°C. Avoid repeated freezing and thawing. Maintain cold when thawed.

Applications

- Real time quantitative PCR to quantify DNA/ cDNA: gene copy number determination, microbial detection, gene expression, etc.
- Genotyping.
- Multiplex or singleplex PCR

Technical Assistance

Please refer any technical questions to support@tiarisbiosciences.com

PROTOCOL

1. Gently vortex and briefly centrifuge Q-PLUS™-Probe Real Time qPCR Master Mix (2x) after thawing.
2. Place a tube on ice and add the following components for each 20 µL reaction. Prepare sufficient master mix for the number of reactions. Consider one or two extras.

Components	Volume	Final Conc.
Q-PLUS™-Probe Real Time qPCR Mastermix (2x)*	10 µL	1x
Forward primer 15 µM (15 pmol/µL)	<2 µL	50-400 nM
Reverse primer 15 µM (15 pmol/µL)	<2 µL	50-400 nM
Probe (10µM)	0.2-0.8 µL	100-400 nM
Template DNA**(step 5)	<2 µL	**
PCR Grade Water, nuclease-free	up 20 µL	
Final Volume	20 µL	

* ROX as required; see section: "ROX Reference Dye"

**Optimal amounts of template: genomic DNA <1 µg, plasmid or viral DNA 1-50 ng, cDNA synthesis reaction 1-5 µL (or <100 ng).

3. Dispense the master mix into wells of PCR plate or tubes.
4. Add in each well the DNA sample. Mix well by pipetting and spin down the samples.
5. Seal the PCR plate with optical film or tube caps.
6. Set up thermocycler with your optimized program conditions (if applicable, select fast mode on the instrument*):

Suggested thermal cycling conditions:

Process	Cycles	Temperature	Time
Enzyme Activation	1 x	95 °C	2-3 min
Denaturation	40 x	95 °C	5 sec
Annealing/ Extension		60-65°C	20-30sec**
Dissociation/Melt Analysis	See your instrument guidelines for setup.		

*For efficient qPCR, under fast cycling conditions, it is recommended to amplify DNA fragments ranging from 80-200bp.

** Select the shortest time possible but not less than 20 sec and do not exceed 30 seconds. Primers should have melting temperature of approximately 60°C.

In case of 3-step cycling, anneal at optimal annealing temperature for 20 sec and minimum time necessary at 72°C for data acquisition (according to manufacturer's guidelines).

Q-PLUS™-Probe Real Time qPCR Master Mix (2x)

Referencias

TBK0070, 5 reacciones (muestra)	TBK0072, 400 reacciones	TBK0074, 1000 reacciones
TBK0071, 200 reacciones	TBK0073, 500 reacciones	

Description

Q-PLUS™-Probe Real-Time qPCR Master Mix (2x) es una mezcla optimizada diseñada para su uso en PCR cuantitativa en tiempo real. El kit incluye una mezcla maestra de qPCR en formato 2x. Esta mezcla incorpora todos los componentes esenciales para la PCR en tiempo real, incluidos dNTPs, estabilizadores y potenciadores, diseñados para la amplificación y detección eficiente de ADN en qPCR, con flexibilidad para usar una amplia gama de tecnologías basadas en sondas, incluidas Taqman®, Molecular Beacons® y sondas Scorpion®. Este kit también incluye un vial separado de ROX que se puede añadir opcionalmente a la mezcla de reacción de qPCR. La concentración final de ROX variará según las especificaciones del fabricante de cada termociclador en tiempo real.

Características

- Listo para usar.
- Especificidad y sensibilidad mejoradas, amplificando moldes de bajo número de copias con una reducida amplificación no específica.
- Compatible con PCRs rápidas y estándar.
- Alta eficiencia en reacciones multiplex.

Referencia ROX

El uso de ROX es una referencia pasiva necesaria para ciertas máquinas de PCR en tiempo real, ya que compensa las variaciones en la detección de fluorescencia que no están relacionadas con la PCR. La fluorescencia emitida por ROX permanece constante durante todo el proceso de PCR en tiempo real, proporcionando una línea base estable contra la cual se pueden normalizar las señales fluorescentes relacionadas con la PCR. Como resultado, ROX puede compensar las diferencias que puedan surgir debido a ligeras variaciones en el volumen de reacción o diferencias en la posición del pocillo.

Dependiendo de su equipo, si este es "ROX Alto", añadir 18 µL de ROX a 1 mL Q-PLUS™ Probe qPCR Master Mix (2x) y de un vortex breve. Si su instrumento es "ROX Bajo" o "Sin ROX", entonces usar la master mix tal y como es suministrada, sin añadir ROX. Una vez que el ROX ha sido añadido, la mezcla puede ser usada directamente o conservada a -20°C durante 1 año.

Componentes

Componentes	TBK0071	TBK0072	TBK0073	TBK0074
Q-PLUS™-Probe Real Time qPCR Master Mix (2x)	2 x 1 mL	4 x 1 mL	5 x 1 mL	10 x 1 mL
PCR Grade Water	2 mL	2 x 2 mL	3 x 2 mL	5 x 2 mL
ROX Reference Dye	1 vial	1 vial	1 vial	2 vial

Referencia Componentes: ROX Reference Dye (TBR0278) | PCR Grade Water, nuclease free (TBB0303).

Almacenaje

Se envía en hielo azul. Al recibirlo, los componentes del kit deben almacenarse inmediatamente a -20°C. Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas. Mantener en frío cuando esté descongelado.

Aplicaciones

- PCR cuantitativa para cuantificar ADN/ ADN copia, determinación del número de copias, expresión génica, detección de microbios, etc.
- Genotipado.
- PCR simple o multiplex.

Asistencia Técnica

Por favor, dirija cualquier pregunta técnica a support@tiarisbiosciences.com.

Estaremos encantados de ayudarle!

PROTOCOLO

1. Tras descongelar los componentes del kit, dar un vortex suave a los tubos y centrifugar brevemente.
2. Coloque un tubo sobre hielo y agregue los siguientes componentes para cada reacción de 20 µL. Prepare suficiente mezcla para el número de reacciones. Considere preparar una o dos reacciones adicionales:

Componentes	Volumen	Concentración Final
Q-PLUS™-Probe Real Time qPCR Mastermix (2x)*	10 µL	1x
Forward primer 5 µM (5 pmol/µL)	<2 µL	50-400 nM
Reverse primer 5 µM (5 pmol/µL)	<2 µL	50-400 nM
Sonda (10 µM)	0,2-0,8 µL	100-400 nM
ADN Molde**(paso 5)	<2 µL	**
PCR Grade Water, nuclease-free	up 20 µL	
Volumen Final	20 µL	

* ROX requerido; ver sección "Referencia ROX"

** Cantidad óptima de molde: ADN genómico <1 µg, plásmido o ADN viral 1-50 ng, reacción de síntesis de cDNA 1-5 µL (o <100 ng).

3. Dispensar la mezcla en los pocillos de la placa de PCR.
4. Dar un vortex suave y un spin a las muestras.
5. Añadir en cada pocillo la muestra de ADN. Mezclar bien por pipeteo.
6. Sellar la placa de PCR con film óptico.
7. Programar la qPCR (si es aplicable, seleccionar el modo fast del equipo):

Condiciones sugeridas:

Proceso	Ciclos	Temperatura	Tiempo
Activación Enzima	1 x	95 °C	2-3 min
Activación Enzima	40 x	95 °C	5 seg
Anillamiento/ Extensión		60-65 °C	20-30 seg**
Melting	Chequee el manual de su equipo para programarlo.		

* Para una qPCR eficiente, bajo el modo fast, es recomendable amplificar fragmentos de ADN en el rango de 80-200 pb.

** Seleccionar el menor tiempo posible pero no menos de 20 segundos y no más de 30 segundos. No usar primers con Tm por debajo de 60°C.

En caso de incluir 3 pasos en cada ciclo, anillar a la temperatura óptima durante 20 seg y use el tiempo mínimo necesario para adquirir los datos a 72°C, de acuerdo con las instrucciones del equipo.