



Q-PLUS™ - One-Step Probe qPCR Master Mix (2x)

Ordering Info

TBK0009, sample

TBK0010, 100 rxns of 20 µL

TBK0011, 500 rxns of 20 µL

Description

Q-PLUS™- One-Step Probe qPCR Master Mix (2x) allows first-strand cDNA synthesis and subsequent qPCR in a single-tube reaction procedure, reducing the risk of contamination and significantly minimizing hands-on time. The kit includes our **Q-PLUS™- Probe qPCR Master Mix**, presented as a 2x 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®. In addition, a separate RT mix that comprises a balanced mixture of both Reverse transcriptase and Ribonuclease Inhibitor is also provided. 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

- High Efficiency in multiplex reactions.
- High Efficiency in GC/AT-rich templates.
- Early Ct values – Rapid extension rate.
- Extreme sensitivity – increased limit of detection.
- Compatible with fast and standard PCR program.

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 2 µL (Low ROX) or 20 µL (High ROX) of the ROX reference dye 100x to 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	TBK0010	TBK0011
Q-PLUS™- Probe qPCR Master Mix 2x	1 mL	5x 1 mL
ROX reference dye	1 vial	1 vial
RT Mix	100 µL	5x 100 µL
RNase-free Water	1 mL	5x 1 mL

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

- One-Step RT-qPCR
- Absolute quantification
- Gene copy number determination
- Gene expression analysis

Technical Assistance

Please refer any technical questions to support@tiarisbiosciences.com

For Research Use Only

© TIARIS Biosciences, 2024

Q-PLUS™-One Step-Probe qPCR Master Mix

PROTOCOL

1. Gently vortex and briefly centrifuge kit components 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 Concentration
Q-PLUS™ Probe qPCR Master Mix (2x)	10 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
RT Mix	0.1-1 µL	variable
Template RNA (step 5)	*	*
PCR Grade Water, nuclease-free	up 20 µL	
Final Volume	20 µL	

* In case of total RNA 1pg-1µg; in case of mRNA > 0.01pg; in case of viral RNA 10-10⁸ copies.

3. Dispense the master mix into wells of PCR plate.
4. Gently vortex and spin down the samples.
5. Add in each well the RNA sample. Mix well by pipetting.
6. Seal the PCR plate with optical film.
7. Set-up qPCR cycling (if applicable, select fast mode on the instrument):

Suggested thermal cycling conditions:

Process	Cycles	Temperature	Time
cDNA synthesis	1 x	45°C/55°C *	10-20 min
Enzyme Activation	1 x	95 °C	2-5 min
Denaturation	40 x	95 °C	5 sec
Annealing/ Extension**		60-65°C	20-30 sec
Melting	1 x	see your instrument guidelines for setup	

* For most applications, cDNA synthesis should be carried out at 45°C. In case of targets with high secondary structure, synthesis may be optimized by carrying out at 55°C

** Select the shortest time possible but not less than 20 sec and do not exceed 30 seconds. Do not use primers with T_m below 60°C.

Q-PLUS™ - One-Step Probe qPCR Master Mix (2x)

Referencias

TBK0009, (muestra)

TBK0010, 100 reacciones de 20 µL

TBK0011, 500 reacciones de 20 µL

Descripción

Q-PLUS™- One-Step Probe qPCR Master Mix (2x) permite la síntesis de ADN copia y la posterior qPCR en una reacción que ocurre en un solo tubo, lo que reduce el riesgo de contaminación y minimiza significativamente el tiempo de manipulación. El kit incluye nuestra **Q-PLUS™- Probe qPCR Master Mix**, presentada en formato 2x. La 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 compatibles con una amplia gama de tecnologías: sondas Taqman®, Molecular Beacons® y Scorpion®. Además, el kit incluye un tubo RT Mix que contiene una mezcla equilibrada de transcriptasa inversa e inhibidor de ribonucleasa. Este kit también incluye un vial separado de ROX que puede añadirse opcionalmente a la mezcla de reacción qPCR. La concentración final de ROX variará según las especificaciones de cada termociclador en tiempo real.

Características

- Alta eficiencia en reacciones multiplex.
- Alta eficiencia en moldes ricos en GC/AT.
- Valores C_T tempranos.
- Sensibilidad extrema – incremento del límite de detección.
- Compatible con programas rápidos y estándar de PCR

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 no 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, antes de usar la master mix por vez primera, añadir 2 µL (*Bajo ROX*) o 20 µL (*Alto ROX*) de ROX Reference Dye 100x a 1 mL Q-PLUS™ Probe qPCR Master Mix (2x) y de un vortex breve. Una vez que el ROX ha sido añadido, la mezcla puede ser usada directamente o conservada a -20°C durante 1 año.

Componentes

Componentes	TBK0010	TBK0011
Q-PLUS™- Probe qPCR Master Mix 2x	1 mL	5x 1 mL
ROX reference dye	1 vial	1 vial
RT Mix	100 µL	5x 100 µL
RNase-free Water	1 mL	5x 1 mL

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

- RT-qPCR en un único paso
- Cuantificación
- Determinación del número de copias
- Análisis de la expresión génica

Asistencia Técnica

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

PROTOCOLO

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

Componentes	Volumen	Concentración Final
Q-PLUS™ Probe qPCR Master Mix (2x)	10 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
RT Mix	0,1-1 µL	variable
Molde ARN (paso 5)	*	*
PCR Grade Water, nuclease-free	up 20 µL	
Volumen Final	20 µL	

* En caso de emplear ARN, 1pg-1µg; en caso de ARNm > 0.01 pg; en caso de ARN viral 10-10⁸ copias.

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

Condiciones sugeridas:

Proceso	Ciclos	Temperatura	Tiempo
Síntesis de cDNA	1 x	45°C/55°C *	10-20 min
Activación Enzima	1 x	95 °C	2-5 min
Desnaturalización	40 x	95 °C	5 seg
Anillamiento/ Extensión**		60-65°C	20-30 seg
Melting	1 x	Chequee el manual de su equipo para programarlo	

* Para la mayoría de las aplicaciones, la síntesis de cDNA debe ser realizada a 45°C. En caso de moldes con estructuras secundarias, la síntesis podría ser optimizada realizando la síntesis a 55°C.

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