



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

Ordering Info

TBK0013, sample

TBK0014, 100 rxns of 20 µL

TBK0015, 500 rxns of 20 µL

Description

Q-PLUS™ One-Step Green RT-qPCR Master Mix (2x) allows first-strand cDNA synthesis and subsequent qPCR in a single-tube reaction procedure, decreasing contamination risk and reducing hands-on time considerably. The kit includes our Q-PLUS™ Green RT-qPCR Master Mix developed for fast PCR, provided as a 2x reaction mixture, which contains all components necessary for real-time PCR, including a green intercalating dye, dNTPs, stabilizers and enhancers. 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 C_T 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 for 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™ Green 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	TBK0014	TBK0015
Q-PLUS™ Green qPCR Master Mix, (2x)	1 mL	5 x 1 mL
RT Mix	100 µL	5 x 100 µL
ROX reference dye	1 vial	1 vial
PCR Grade Water, nuclease free	2 mL	3x 2 mL

Order Info Kit Components: Q-PLUS™ Green qPCR Master Mix 2x (TBK0014-1) | RT Mix (TBK0014-2) | ROX Reference Dye (TBK0278) | PCR Grade Water, nuclease free (TBK0300).

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

- Absolute quantification
- Gene copy number determination
- Gene expression analysis

Technical Assistance

Please refer any technical questions to support@tiaribiosciences.com

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 μ L reaction. Prepare sufficient master mix for the number of reactions. Consider one or two extras:

Components	Volume	Final Concentration
Q-PLUS™ Green qPCR Master Mix (2x)	10 μ L	1x
Forward primer (5 pmol/ μ L)	0.8 μ L	400 nM
Reverse primer (5 pmol/ μ L)	0.8 μ L	400 nM
RT Mix	1 μ L	1x
Template RNA (step 5)	*	*
PCR Grade Water, nuclease-free	up 20 μ L	
Final Volume	20 μL	

* In case of total RNA 10pg-100ng, in case of mRNA > 0.01pg

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 min
Enzyme Activation	1 x	95 °C	2 min
Denaturation	40 x	95 °C	5 sec
Annealing/ Extension		60-65°C	20-30 sec**
Melting	1 x	***	

* 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

*** See your instrument guidelines for setup.



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

Referencias

TBK0013, muestra

TBK0014, 100 reacciones de 20 µL

TBK0015, 500 reacciones de 20 µL

Descripción

Q-PLUS™ One-Step Green RT-qPCR Master Mix (2x) permite la síntesis de la primera hebra de cDNA y la posterior qPCR en un procedimiento de reacción en un solo tubo, disminuyendo el riesgo de contaminación y reduciendo considerablemente el tiempo de manipulación. El kit incluye nuestro Q-PLUS™ Green RT-qPCR Master Mix, desarrollado para PCR rápida, y se proporciona como una mezcla de reacción 2x que contiene todos los componentes necesarios para la PCR en tiempo real, incluidos un intercalante verde, dNTPs, estabilizadores y potenciadores. Además, se proporciona una mezcla de RT separada que incluye una mezcla balanceada 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 de qPCR. La concentración final de ROX variará según las especificaciones del fabricante de cada equipo de PCR en tiempo real.

Características

- Alta eficiencia en reacciones multiplex.
- Alta eficiencia en plantillas ricas en GC/AT.
- Valores C_T tempranos.
- Sensibilidad extrema – aumento 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™ Green 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.

Solo para Uso en Investigación

© TIARIS Biosciences, 2024

Componentes

Componentes	TBK0014	TBK0015
Q-PLUS™ Green qPCR Master Mix, (2x)	1 mL	5x 1 mL
RT Mix	100 µL	5 x 100 µL
ROX reference dye	1 vial	1 vial
PCR Grade Water, nuclease free	2 mL	3x 2 mL

Referencia Componentes: Q-PLUS™ Green qPCR Master Mix 2x (TBK0014-1) | RT Mix (TBK0014-2) | ROX Reference Dye (TBK0278) | PCR Grade Water, nuclease free (TBK0300).

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

- Cuantificación absoluta
- Determinación del número de copias
- Análisis de la expresión génica

Asistencia Técnica

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

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

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. Considerar una o dos reacciones adicionales:

Componentes	Volumen	Final Concentration
Q-PLUS™ Green qPCR Master Mix (2x)	10 µL	1x
Forward primer (5 pmol/µL)	0.8 µL	400 nM
Reverse primer (5 pmol/µL)	0.8 µL	400 nM
RT Mix	1 µL	1x
ARN Molde (paso 5)	*	*
PCR Grade Water, nuclease-free	up 20 µL	
Final Volume	20 µL	

* In case of total RNA 10pg-100ng, in case of mRNA > 0.01pg

- Dispensar la mezcla 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 min
Activación Enzima	1 x	95 °C	2 min
Desnaturalización	40 x	95 °C	5 seg
Anillamiento/ Extensión **		60-65°C	20-30 seg **
Melting	1 x	***	

* 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 menor de 60°C.

*** Chequee el manual de su equipo para programarlo