

PCR Genotyping Kit

(Katalogové číslo D215, D216, D217)

rev. 02/2022

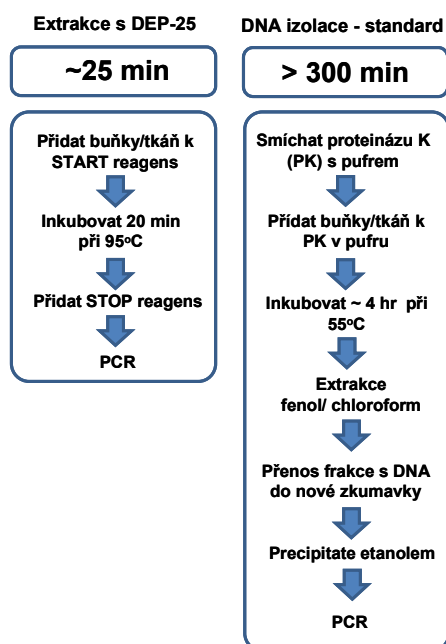
Popis

PCR Genotyping Kit je určen pro rychlou extrakci DNA z různých tkání a buněk a následnou genotypizaci extrahované DNA metodou PCR. Kit obsahuje **DEP-25 DNA Extraction Kit** a **Combi PPP Master Mix** pro hot start PCR.

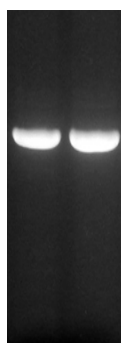
DEP-25 (DNA Extrakce pro PCR do 25 min) je dvousložková souprava pro extrakci genomové DNA různého původu. Extrakce pomocí DEP-25 je provedena rychle a v jedné zkumavce. To snižuje možnost vzájemné kontaminace vzorků, která se může projevit v následné PCR. Souprava umožňuje vysokokapacitní extrakci DNA a je zvláště vhodná pro identifikaci genotypů, určování identity buněk a jejich případných kontaminací. DNA z různých buněk a tkání může být připravena do 25 min a nevyžaduje časově náročné enzymatické opracování buněk, purifikaci na koloně nebo fenol/chloroformovou extrakci (**Obr. 1**).

Combi PPP Master Mix je určen pro zjednodušenou hot start PCR. Obsahuje Taq DNA polymerázu, deoxyribonucleotidy, reakční pufr, aditiva a monoklonální protilátku anti-Taq, která zajišťuje hot start PCR. Vzorky pro PCR jsou připraveny smícháním Combi PPP Master Mix s vybranými oligonukleotidovými primery, templátovou DNA a vodou pro PCR. Aditiva a barvivo umožňují nanesení vzorku po PCR na gel bez nutnosti přidávat vkládací pufr. Combi PPP master Mix je kompatibilní s templátovou DNA extrahovanou pomocí DEP-25 (**Obr. 2**).

Podrobný popis soupravy, technická data and protokoly jsou popsány v produktových listech k **DEP-25 DNA Extraction Kitu** (kat. č. D225, D226, D227) and k **Combi PPP Master Mixu** (kat. č. C208, C209, C210). Jednotlivé komponenty soupravy lze zakoupit také samostatně.



Obr. 1. Schematické znázornění postupu přípravy genomové DNA ve kvalitě vhodné pro PCR analýzu. Extrakce DNA pomocí DEP-25 zahrnuje 3 jednoduché kroky a trvá ~25 minut. Tato procedura je rychlejší, jednodušší, bezpečnější a lacinější než standardní metoda izolace DNA, která využívá proteinázu K a následnou extrakci pomocí fenolu a chloroformu nebo metody využívající centrifugační kolony.



Obr. 2. Amplifikace genomové DNA izolované pomocí DEP-25 soupravy (1) nebo standardní DNA izolační metody (2). Pro PCR byly použity oligonukl. primery specifické pro DNA fragment o velikosti 864 párů bazí [Nucl. Acids Res., 36(15):e93, 2008]. PCR amplikony byly frakcionovány na agarózovém gelu a barveny ethidium bromidem. Pouze fragmenty očekávané velikosti byly detegovány.

Kat. č.	Název výrobku a specifikace	Množství
D215	PCR Genotyping Kit (DEP-25 + Combi PPP Master Mix)	40 reakcí (25 µl/reakci)
D216	PCR Genotyping Kit (DEP-25 + Combi PPP Master Mix)	200 reakcí (25 µl/reakci)
D217	PCR Genotyping Kit (DEP-25 + Combi PPP Master Mix)	1000 reakcí (25 µl/reakci)

Technické údaje

Komponenty balení

- **DEP-25 DNA Extraction Kit** se dodává v lahvích obsahujících: 2x 8 ml (Kat. č. D225), 2x 30 ml (Kat. č. D226) nebo 2x 120 ml (Kat. č. D227) reagens START-Blue a STOP.
- **Combi PPP Master Mix** se dodává ve zkumavkách o objemu: 500 µl (Kat. č. C208), 5x 500µl (Kat. č. C209), 25x 500µl (Kat. č. C210) + PCR Ultra H₂O.
- Každá souprava obsahuje návod na DNA extrakci v kvalitě pro PCR.

Skladování

- **DEP-25 DNA Extraction Kit** při teplotě 2-8°C. Krátkodobě (několik dnů) při teplotě do 35°C.
- **Combi PPP Master Mix** při teplotě -20°C ± 5°C; materiál snáší opakované rozmrazování.

Čistota a kontrola kvality

- Každá šarže PCR Genotyping Kitu je testována z hlediska využitelnosti pro extrakci genomové DNA ve kvalitě pro PCR. Výsledky PCR jsou ověřovány elektroforézou v agarózovém gelu. Po obarvení ethidium bromidem je detegována pouze DNA očekávané velikosti (**Obr. 2**).