

KURZANLEITUNG

FastQ[®] cff control

Thermocycler: Bio-Rad CFX



PCR PROGRAMM

Schritt	Zeit	Temperatur [°C]	Heizrate [°C/s]	Zyklen
Initiale Aktivierung	10 min	95	2,5	1
Denaturierung	10 s	95	2,5	10
Annealing + Extension	1 min	60	2,2	
	15 s	72	-	
Denaturierung	10 s	95	2,5	35
Annealing + Extension	1 min	60	2,2	
	15 s + plate read	72	-	

FLUOROPHORE

Spezifität	Fetaler Marker	Interne Amplifikationskontrolle (IAC)
Fluorophore	FAM	Texas Red

WORKFLOW

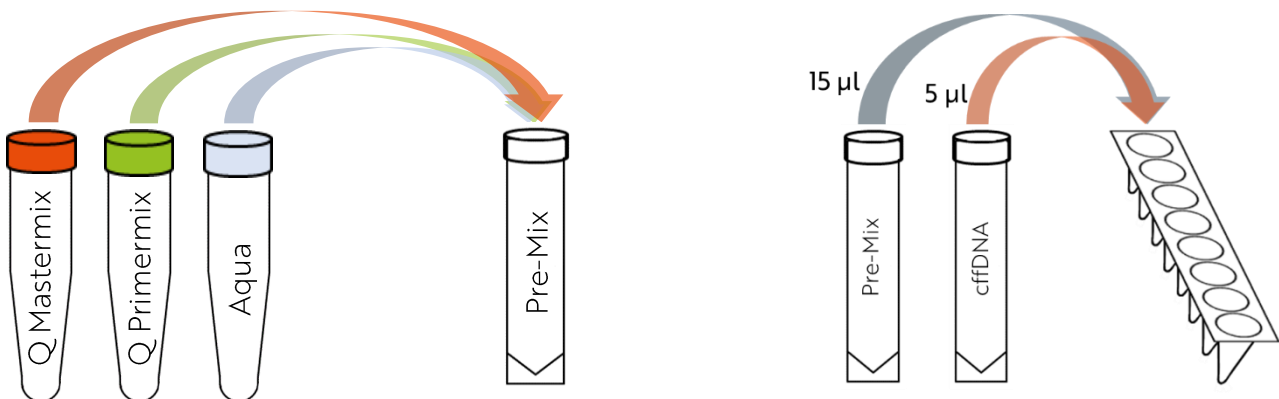
1. Schritt: Vorbereitung	
	Die 475 µl Q Mastermix fetal und die 200 µl Q Primermix cff control bei Raumtemperatur auftauen.
	Die beiden Röhren vorsichtig vortexen.

2. Schritt: Test Setup

Testen Sie die *cell-free fetal DNA* (cffDNA) als Triplikat mit folgendem Testsetup.

Für einen Pre-Mix berechnen Sie entsprechend der Anzahl der Proben ein zusätzliches Volumen von 10%, um den Pipettierverlust zu berücksichtigen. Pipettieren Sie 15 µl des Prä-Mixes in jede Vertiefung und fügen Sie 5 µl der **cffDNA-Probe** hinzu.

	Ansatz Einzeltest	Ansatz Pre-Mix Triplikat: n (Tests) = 3 * n (Proben)
Q Mastermix fetal	10 µl	10 µl * n (Tests) * 1,1 (10% Zuschlag)
Q Primermix cff control	4 µl	4 µl * n (Tests) * 1,1 (10% Zuschlag)
A. dest	1 µl	1 µl * n (Tests) * 1,1 (10% Zuschlag)
Volumen	15 µl	



3. Schritt: Vorbereitung

Reaktionsgefäße verschließen und zentrifugieren.

Legen Sie die Platte/den Streifen in den RT-Cycler, wählen Sie "All Channels" und starten Sie den Lauf.

Bei Steuerung des Cyclers über die Bio-Rad Software, verwenden Sie das entsprechende PCR-Template.

4. Schritt: Auswertung

Alle Signale $C_q \leq 30$ liegen im korrekt positive Bereich.

Für die detaillierte Auswertung bitte die Auswertetabelle in der Gebrauchsinformation beachten.