

KURZANLEITUNG

FastQ[®] B*27 direct

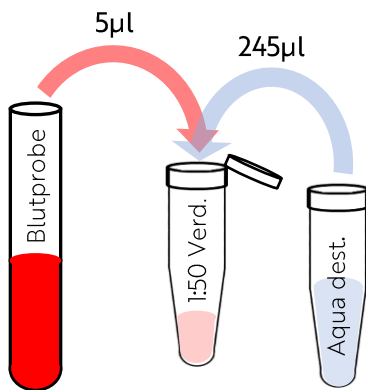
REF 728201



PCR PROGRAMM

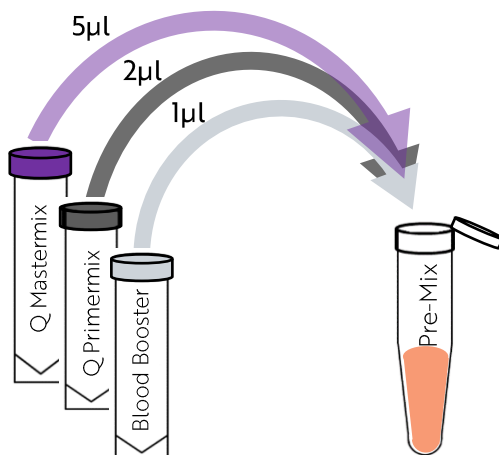
Schritt	Zeit [sec]	Temperatur [°C]	Ramp Rate [°C/sec]	Anzahl Zyklen
Initiale Aktivierung	120	96	2,5	1
Denaturierung	5	98	2,5	18
Annealing + Extension	25	64	2,2	
Denaturierung	5	98	2,5	42
Annealing + Extension	25 + Messen	64	2,2*	
Kühlen	120	37	2,2	1


* die Standard-Ramp rate für das CFX96 Touch™ & CFX Opus 96 Real-Time PCR Detection System verwenden.

ARBEITSABLAUF



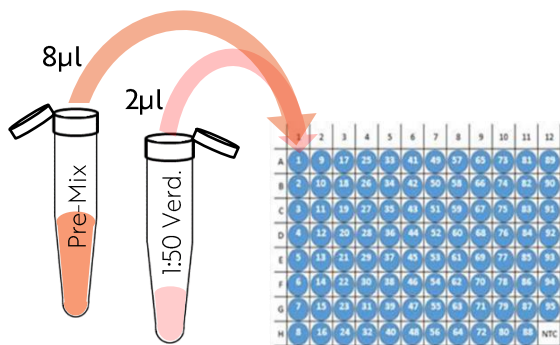
1. Probenverdünnung (1:50)	
	Blutprobe mischen
245 µl	Aqua dest. vorlegen
5 µl	Blut in 245µl Aqua dest. pipettieren
	Probenverdünnung mischen



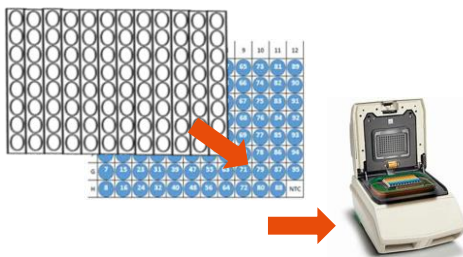
2. Pre-Mix herstellen (siehe Ansatz-tabelle)	
5 µl	Q Mastermix
2 µl	Q Primermix B27-d
1 µl	Blood Booster
Gesamt 8 µl	Pre-Mix
	Pre-Mix gut mischen

Ansatzabelle zur Erstellung eines PCR-Pre-Mix

Anzahl Tests (n)	Q Primermix [µl]	Q Mastermix [µl]	Blood Booster [µl]	Pre-Mix Volumen [µl]
1	2	5	1	8
8	20	50	10	80
16	36	90	18	144
24	56	140	28	228
32	72	180	36	292
40	88	220	44	356
48	104	260	52	420
56	120	300	60	484
64	140	350	70	566
72	156	390	78	630
80	172	430	86	694
96	208	520	104	840



3. Pre-Mix und Proben verteilen	
	Pre-Mix mischen
8 µl	Pre-Mix
	Probe mischen
2 µl	Probe (1:50)
Gesamt 10 µl	Reaktionsvolumen



4. RT-PCR starten	
Platte mit Deckeln oder Folie verschließen	
Platte in den Cyler stellen und starten	

INTERPRETATION

Spezifität	Fluorophor	Baseline Threshold	Quantification cycle (Cq)
B*27	Cal Fluor Orange 560	Auto	≤ 30
Interne Amplifikationskontrolle (IAC)	FAM	Auto	≤ 20