



UNG Virus RNA Detection Kit (One Tube RT-QPCR Mix)

Datenblatt

Artikel-Nr. BS.01.0250UNG	500 µl (2x konz.)
Artikel-Nr. BS.01.1250UNG	2 x 1,25 ml (2x konz.)
Artikel-Nr. BS.01.6250UNG	10 x 1,25 ml (2x konz.)

(Nur für Forschung und *in vitro*-Anwendungen)

Chargen-Nr.:

Mindestens haltbar bis:

Aussehen: klare Flüssigkeit

Farbe: transparent

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33
---	--	--



UNG Virus RNA Detection Kit (One Tube RT-QPCR Mix)

Beschreibung

Der UNG Virus RNA Detection Kit ist validiert für die molekulare Diagnostik von SARS-CoV-2 welches die neue Coronavirus-Infektionskrankheit COVID-19 verursacht.

Er ermöglicht quantitative Real-Time-Analysen (QPCR) von RNA -Templates mit doppelt markierten fluoreszierenden Sonden.

Zusammensetzung und Besonderheiten des Kits

Der **ready-to-use** Enzym-Mix enthält eine gentechnisch optimierte Reverse Transkriptase mit verbesserter thermischer Stabilität. Dadurch wird eine höhere Spezifität, größere cDNA Ausbeuten und eine verbesserte Transkriptionseffizienz auch bei längeren cDNA Stücken mit ausgeprägter Sekundärstrukturbildung erreicht.

Der Kit enthält alle für RT-QPCR benötigten Reagenzien (außer Template, Primer und die doppelt markierte fluoreszierende Sonde), **in einem Tube** für eine schnelle und einfache Vorbereitung mit einem Minimum an Pipettierschritten. Der Enzym-Mix in Premiumqualität und der optimierte Reaktionspuffer mit ultrareinen dNTPs garantieren herausragende Amplifikationsergebnisse.

Der Kit enthält **UNG** (Uracil-N-Glycosylase) und **dUTP** anstelle von dTTP, um eine Kontamination mit der DNA aus früheren PCR-Reaktionen zu vermeiden. Die UNG-Behandlung zu Beginn des thermischen Zyklus entfernt Uracilreste aus dU-haltiger DNA und verhindert, dass sie als Template dient. Die UNG ist thermolabil und wird in Folge dessen danach schnell inaktiviert.

Ablauf

Bei der RT-PCR wird ausgehend von einzelsträngigen RNA-Molekülen doppelsträngige DNA synthetisiert. Im ersten Schritt, der Reversen Transkription, generiert die Reverse Transkriptase einzelsträngige DNA Moleküle (cDNA) komplementär zu den in der Probe vorhandenen RNA templates. Im ersten Zyklus der PCR synthetisiert die Hot-Start DNA-Polymerase DNA-Moleküle komplementär zur einzelsträngigen cDNA und generiert so doppelsträngige DNA-Moleküle. Durch die Hot-Start-Polymeraseaktivität erreicht man dabei eine sehr hohe Spezifität. In den folgenden PCR-Zyklen werden die gewonnenen doppelsträngigen DNA-Moleküle exponentiell vervielfältigt.

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33
---	--	--



UNG Virus RNA Detection Kit (One Tube RT-QPCR Mix)

Vorteile des One-Tube Kits

In den One-Tube RT-QPCR Kit sind alle benötigten Komponenten sowohl für die UNG Behandlung, sowie die Reverse Transkription als auch für die QPCR im Reaktionsgefäß bereits vor Reaktionsstart enthalten und alle Reaktionsschritte werden so direkt nacheinander durchgeführt ohne dass das Reaktionsgefäß noch einmal geöffnet werden muss, dies minimiert das Risiko für Kontaminationen.

Sensitivität

Zielsequenzen können generell in 1pg bis 20 ng poly(A) RNA (mRNA) oder 10pg – 1µg Gesamt-RNA nachgewiesen werden. Hoch exprimierte Zielsequenzen können eventuell bereits aus geringeren RNA-Mengen erfolgreich amplifiziert werden.

Doppelt markierte (“dual labeled”) Fluoreszenz-Sonden

Die Real-Time-PCR Technologie basierend auf doppelt markierten Sonden bietet ein hoch sensitives und spezifisches PCR System mit Multiplex-Fähigkeit. Es benötigt zwei Standard-PCR-Primer und die DNA-Sonde, die an einem inneren Teil des Amplikons hybridisiert. Die Sequenz der doppelt markierte DNA-Sonde sollte möglichst keine Sekundärstruktur und keine Primer-Dimer-Bildung aufweisen.

Inhalt des Kits:

- **2x RT-QPCR Enzym-Mix UNG**

Gebrauchsfertige (ready-to-use) Mischung aus Reverse Transkriptase, Hot Start Polymerase AB +, UNG, RNase Inhibitor, dNTPs inkl. dUTP, Reaktionspuffer und Stabilisatoren.

- **RNase-freies Wasser**

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33
---	--	--

UNG Virus RNA Detection Kit (One Tube RT-QPCR Mix)

Vorbereitung des RT-QPCR Assay

Geben Sie die Komponenten in folgender Reihenfolge in ein Nuklease-freies Tube. Pipettieren Sie dabei **auf Eis** und mischen Sie die Komponenten durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren. Generell sollte immer zuerst das Wasser, die RNA und die Primer miteinander vermischt werden, bevor die restlichen Komponenten zugegeben werden.

Komponente	Stock Konz.	End Konz.	20 µl Assay	50 µl Assay
RNase-freies Wasser			Auffüllen auf 20 µl	Auffüllen auf 50 µl
RNA Template ¹⁾		< 100 ng	X µl	X µl
forward Primer	10 µM	400 nM	0,8 µl	2 µl
reverse Primer	10 µM	400 nM	0,8 µl	2 µl
Doppelt markierte Sonde	10 µM	200 nM	0,4 µl	1 µl
2x RT-QPCR Enzym-Mix UNG ²⁾	2x	1x	10 µl	25 µl

1) bis zu 100 ng polyA-RNA oder Gesamt-RNA

2) RT-QPCR Enzym Mix UNG enthält bereits den RNase Inhibitor
(dieser kann essentiell sein wenn mit geringen Mengen an RNA gearbeitet wird)

Fahren Sie fort mit dem "Reverse Transkription und PCR-Protokoll".

UNG Virus RNA Detection Kit (One Tube RT-QPCR Mix)

Reverse Transkription und PCR-Protokoll

Stellen Sie die Proben in einen PCR-Cycler und starten Sie folgendes Programm:

Zyklusschritt	Temperatur	Zeit	Anzahl der Zyklen
Reverse Transkription ³⁾	50°C	20-30 min	1x
Initiale Denaturierung ⁴⁾	95°C	5 min	1x
Denaturierung	95°C	15 sek	35-45x
Annealing ⁵⁾ und Elongation ⁶⁾	60-65 °C	40-60 sek	

3) Eine Reverse Transkriptions-Zeit von 20 min wird empfohlen bei Amplikon-Längen zwischen 100 - 200 bp. Längere Amplikons bis zu 500 bp benötigen eine verlängerte Inkubationszeit von 30 min. Fügen Sie weitere 3 min pro zusätzlichen 100bp hinzu. Die optimale Temperatur hängt von den Struktureigenschaften der RNA ab. Erhöhen Sie die Temperatur auf 55 °C bei schwierigen Templates mit starker Sekundärstruktur-Bildung. Bitte beachten Sie, dass die optimale Reaktionszeit und Temperatur für jede einzelne RNA angepasst werden sollte.

4) Eine Initiale Denaturierungszeit von 5min wird empfohlen, um die Reverse Transkriptase zu inaktivieren

<p>Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg</p>	<p>E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de</p>	<p>Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33</p>
--	--	--



UNG Virus RNA Detection Kit (One Tube RT-QPCR Mix)

- 5) Die Annealing-Temperatur hängt von der Schmelztemperatur der Primer und der DNA Sonde ab.
- 6) Die Elongationszeit hängt von der Länge des Amplikons ab:
1min für eine Amplikonlänge von bis zu 1.000 bp ist dabei empfohlen.

Anmerkung:

Für eine optimale Spezifität und Amplifikation kann eine individuelle Optimierung der empfohlenen Parameter nötig sein.
Bitte beachten Sie, dass für jede einzelne RNA und jedes Primer-Paar eine Anpassung der optimalen Reaktionszeiten und Temperaturen vorgenommen werden sollte.

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33
---	--	--



UNG Virus RNA Detection Kit (One Tube RT-QPCR Mix)

Technische Daten

Versand: bei Raumtemperatur

Lagerung: bei -20 °Celsius

Häufiges Auftauen und Einfrieren vermeiden!

Sicherheitshinweis: Dieses Produkt sollte nur von Personen verwendet werden, die Routine in Laboranwendungen haben. Es sollte laborübliche Schutzkleidung wie Kittel, Handschuhe und Schutzbrillen getragen werden. Bei Kontakt mit Haut und Augen sollten die betroffenen Stellen umgehend mit Wasser gewaschen bzw. ausgespült werden.

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33
---	--	--



UNG Virus RNA Detection Kit (One Tube RT-QPCR Mix)

Bio&SELL Produkte für die RNA-Extraktion

Bio&SELL

Virus-RNA Isolation-Kit

Zur Isolierung viraler RNA (auch **SARS-CoV-2**) durch Säulen-Extraktion aus den unterschiedlichsten Ausgangsmaterialien.

ab 59,90 €

Bio&SELL

RNA Mini Kit

Zur Isolierung hochreiner RNA aus Gewebe, Zellen und Bakterien.

ab 47,90 €

Bio&SELL

Blut RNA Mini Kit

Zur Isolierung hochreiner RNA aus Vollblut oder einer Leukozytenfraktion.

ab 47,90 €

Bio&SELL

RNA Micro Kit

Zur Isolierung hochreiner RNA aus Gewebe, Zellen und Bakterien.

20 bis 25 Nukleotide

15 min Präparationsdauer

ab 47,90 €

Bio&SELL

RNA Tri-Flüssig

Klassische, modifizierte Guanidinisothiocyanat/Phenol-Methode zur Isolierung hochreiner RNA aus Gewebe, Zellen und Bakterien.

ab 114,90 €

Wir wünschen viel Erfolg! 

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33
---	--	--