

CONGEN

SureFast[®] Master Probe

Art. No. F4006-2
500 rxn

User Manual



March 2021

 **Inhalt**

1	Allgemeines	3
1.1	Beschreibung	3
1.2	Kit-Inhalt und Lagerung	3
1.3	Zusätzliche benötigte Geräte und Materialien	3
1.4	Geräteeinstellungen	3
2	Qualitative Analyse	4
2.1	Protokoll	4
2.1.1	Herstellen des Master-Mix	4
2.1.2	Herstellen des real-time PCR-Mix	4
2.2	Interpretation der Ergebnisse	4
3	Weitere Informationen	5
3.1	Weitere Dokumente und Hilfsmittel	5
3.2	Technischer Support	5

 **Content**

1	General Information	6
1.1	Description	6
1.2	Kit components and storage	6
1.3	Additionally required equipment and materials	6
1.4	Setup	6
2	Qualitative Analysis	7
2.1	Protocol	7
2.1.1	Preparation of the master-mix	7
2.1.2	Preparation of the real-time PCR-mix	7
2.2	Interpretation of results	7
3	Further Information	8
3.1	Product Information	8
3.2	Technical Support	8

1 Allgemeines

1.1 Beschreibung

Der SureFast® Master Probe dient der spezifischen Detektion von PCR-Amplifikaten mittels Sondentechnologie in der real-time PCR. Es sind alle notwendigen Reagenzien mit Ausnahme der Primer, der spezifischen Sonde und der Nukleinsäure enthalten.

Das Verfahren kann mit allen gängigen real-time PCR Geräten, z.B. Roche LightCycler® 480 II, Qiagen Rotor-Gene Q, Applied Biosystems 7500, Bio-Rad CFX96, R-Biopharm RIDA®CYCLER und Agilent AriaMx, verwendet werden.

1.2 Kit-Inhalt und Lagerung

Kit Code	Reagenz	Menge	Deckelfarbe
1	Reaction Mix	5 x 1300 µl	Gelb
2	PCR Water	5 x 450 µl	Weiß
3	Taq Polymerase	5 x 11 µl	Rot

1.3 Zusätzliche benötigte Geräte und Materialien

- Real-time PCR Gerät
- Real-time PCR Verbrauchsmaterialien (Platten, Gefäße, Folien, Deckel)
- Spezifische Primer, Sonde, DNA
- Pipetten, Pipettenspitzen mit Filtern
- Einmalhandschuhe, puderfrei
- Vortexmischer
- Mikrozentrifuge mit Rotor für Reaktionsgefäße

1.4 Geräteeinstellungen

	Blockcyler & R-Biopharm RIDA®CYCLER	Rotorcyler & LightCycler® 480 II
Initial Denaturation (HOLD) Cycles	5 min, 95°C 45	1 min, 95°C 45
Denaturation	15 sec, 95°C	10 sec, 95°C
Annealing/Extension (CYCLE)	30 sec, 60°C	15 sec, 60°C
Temperature Transition Rate/ Ramp Rate	Maximum	Maximum

2 Qualitative Analyse

2.1 Protokoll

2.1.1 Herstellen des Master-Mix

Die Gesamtzahl der für die PCR benötigten Reaktionen (Proben und Kontrollreaktionen) ist zu berechnen. Folgende Kontrollen werden empfohlen: Negativkontrolle, Extraktionskontrolle und Positivkontrolle. Es wird empfohlen den Mix mit 10 % zusätzlichem Volumen anzusetzen, um einen Pipettierverlust auszugleichen. Vor der Benutzung die Reagenzien auftauen, mischen und zentrifugieren.

Beispiel für die Berechnung und Herstellung von 10 Reaktionen:

Komponenten des Master-Mix	Menge pro Reaktion	10 Reaktionen (zusätzlich 10%)
Reaction Mix	12,5 µl	137,5 µl
Primer 1* (nicht im Kit enthalten)	1,7 µl	18,7 µl
Primer 2* (nicht im Kit enthalten)	1,7 µl	18,7 µl
Sonde* (nicht im Kit enthalten)	0,6 µl	6,6 µl
PCR Water	3,4 µl	37,4 µl
Taq Polymerase**	0,1 µl	1,1 µl
Gesamtvolumen	20 µl	220 µl

*Empfehlung Konzentration: 5 pmol/µl

**Duplex- oder Multiplex-PCR Systeme benötigen ggf. eine höhere Konzentration an Taq Polymerase. Wir empfehlen für Duplex-/Multiplex- PCR Reaktionen die doppelte Menge an Taq Polymerase (0,2 µl/ Rkt.). Für diesen Fall reicht der SureFast® Master Probe Kit lediglich für 250 Reaktionen. Unter der Artikelnummer F4004 /F4005 SureTaq kann extra benötigte Taq Polymerase direkt bestellt werden.

Master-Mix mischen und anschließend kurz zentrifugieren.

2.1.2 Herstellen des real-time PCR-Mix

- Pipettieren von 20 µl des Master-Mix in das jeweilige Reaktionsgefäß.
- Verschließen der Negativkontrolle (Die Negativkontrolle besteht nur aus dem Master-Mix).
- Pipettieren von 5 µl der Proben-DNA in die vorgesehenen Reaktionsgefäße. Verschließen der Gefäße.
- Pipettieren von 5 µl Positive Control in die vorgesehenen Reaktionsgefäße. Verschließen der Gefäße.
- Kurzes Zentrifugieren der Reaktionsgefäße mit wenigen Umdrehungen pro Minute.
- Reaktionsgefäße in das real-time PCR Gerät einsetzen und entsprechend der Geräteeinstellungen starten.

2.2 Interpretation der Ergebnisse

Die Auswertung der Ergebnisse wird mit der Analyse Software der jeweiligen real-time PCR Geräte nach den Angaben des Herstellers durchgeführt.

Die Kontrollreaktionen müssen die korrekten Ergebnisse zeigen.

3 Weitere Informationen

3.1 Weitere Dokumente und Hilfsmittel

- Detaillierte Informationen zur Einstellung bestimmter real-time PCR Geräte
(Download: www.congen.de/unternehmen/download)

3.2 Technischer Support

Bei Fragen zur Durchführung wenden sie sich bitte per E-Mail an info@congen.de.

1 General Information

1.1 Description

The SureFast® Master Probe can be used for the specific detection of PCR products based on probe technology. The kit includes all required reagents except of primer, probe and nucleic acid.

The real-time PCR assay can be performed with commonly used real-time PCR instruments, e.g. Roche LightCycler® 480 II, Qiagen Rotor-Gene Q, Applied Biosystems 7500, Bio-Rad CFX96, R-Biopharm RIDA®CYCLER and Agilent AriaMx.

1.2 Kit components and storage

Kit Code	Reagent	Amount	Lid Color
1	Reaction Mix	5 x 1300 µl	Yellow
2	PCR Water	5 x 450 µl	White
3	Taq Polymerase	5 x 11 µl	Red

1.3 Additionally required equipment and materials

- real-time PCR instrument with two detection channels (510 nm and 580 nm)
- real-time PCR consumable (plates, tubes, capillaries, foils, caps)
- specific primer, probe, DNA
- pipettes with filter tips
- powder-free disposable gloves
- Vortex mixer
- micro centrifuge with a rotor for the reaction tubes

1.4 Setup

	Blockcycler & R-Biopharm RIDA®CYCLER	Rotorcycler & LightCycler® 480 II
Initial Denaturation (HOLD)	5 min, 95°C	1 min, 95°C
Cycles	45	45
Denaturation	15 sec, 95°C	10 sec, 95°C
Annealing/Extension (CYCLE)	30 sec, 60°C	15 sec, 60°C
Temperature Transition Rate/ Ramp Rate	Maximum	Maximum

2 Qualitative Analysis

2.1 Protocol

2.1.1 Preparation of the master-mix

Calculate the total number of reactions needed (samples and control reactions) for the specific PCR assay as well as for the inhibition control. Recommended control reactions for the specific PCR assay: negative control, extraction control, positive control. It is also recommended to prepare the master-mix with 10 % additional volume in order to compensate reagent loss. Allow the reagents to thaw, mix and centrifuge before opening and use.

Example for the calculation and preparation of 10 reactions:

Components of the master-mix	Amount per reaction	10 reactions (with 10% excess)
Reaction Mix	12.5 µl	137.5 µl
Primer 1* (not included in the kit)	1.7 µl	18.7 µl
Primer 2* (not included in the kit)	1.7 µl	18.7 µl
Probe* (not included in the kit)	0.6 µl	6.6 µl
PCR Water	3.4 µl	37.4 µl
Taq Polymerase	0.1 µl	1.1 µl
Total volume	20 µl	220 µl

*Recommendation: concentration: 5 pmol/µl

**Duplex- or Multiplex-PCR systems maybe need a higher concentration of Taq Polymerase. For Duplex- or Multiplex-PCR reactions we recommend the use of double amount (0.2 µl/rxn). In this case the SureFast® Master Probe kit suffices for 250 reactions. Extra Taq Polymerase can be order directly with Art. No. F4004 / F4005 SureTaq.

Mix each master-mix well and centrifuge shortly before use.

2.1.2 Preparation of the real-time PCR-mix

- Pipette 20 µl of the master-mix into appropriate tubes/wells.
- Close the negative control (the negative control is ready for PCR without any addition).
- Pipette 5 µl of sample DNA into the designated tubes/wells and close them.
- Pipette 5 µl of Positive Control into the designated tubes/wells and close them.
- Centrifuge all tubes/plates or capillaries shortly at low speed.
- Place tubes/plates into the real-time PCR instrument and start the run according to the setup.

2.2 Interpretation of results

The evaluation has to be made according to the usual analysis program recommended by the real-time PCR instrument manufacturer. The control reactions have to show the correct results.

3 Further Information

3.1 Product Information

- Detailed information about setup of several real-time PCR devices
(Download: www.congen.de/en/company/downloads)

3.2 Technical Support

For further questions please send an e-mail to info@congen.de.