

Q-PLUS™-Green Real Time qPCR Master Mix (2x)

Ordering Info

TBK0055, 5 reactions (sample)

TBK0057, 400 reactions

TBK0059, 1000 reactions

TBK0056, 200 reactions

TBK0058, 500 reactions

Description

Q-PLUS™-Green Real Time qPCR Master Mix (2X) is an optimized formula dye-based Master Mix to be used in real time quantitative PCR. This 2x reaction mixture contains all the components necessary for real-time PCR, except for primers and the template, enabling the amplification and detection of DNA. This kit also includes a separate vial of ROX that can be optionally added to the qPCR reaction Mix. The final concentration of ROX will vary depending on each real-time cycler manufacturer's specification.

Features

- Ready to use.
- Enhanced specificity and sensitivity, amplifies low copy number targets with reduced non-specific.
- Compatible with fast and standard PCR program.

Kit Components

Components	TBK0056	TBK0057	TBK0058	TBK0059
Q-PLUS™-Green Real Time qPCR Master Mix	2x 1mL	4x 1mL	5x 1mL	10x 1mL
PCR Grade Water	2 mL	2x 2mL	3x 2 mL	5x 2mL
ROX reference dye	1 vial	1 vial	1 vial	2 vial

Order Info Kit Components: ROX Reference Dye (TBR0278) | PCR Grade Water, nuclease free (TBB0303).

Storage

Shipped on blue ice. Upon receipt, kit components should be immediately stored at -20°C. Avoid repeated freezing and thawing. Maintain cold when thawed.

Applications

- Real time quantitative PCR to quantify DNA/ cDNA: gene copy number determination, microbial detection, gene expression.
- Genotyping.

Technical Assistance

Please refer any technical questions to support@tiarisbiosciences.com

ROX Reference Dye

The passive reference dye ROX is necessary for certain real-time PCR machines as it compensates for non-PCR-related variations in fluorescence detection. The fluorescence emitted from the ROX dye remains constant throughout the real time PCR process, providing a stable baseline against which PCR-related fluorescent signals can be normalized. As a result, the ROX dye can compensate for any differences in fluorescence detection between wells that may arise from slight variations in reaction volume or differences in well position.

Depending on your equipment, prior to use for the first time, add 2 µL (Low ROX) or 20 µL (High ROX) of the ROX reference dye to the 1 mL Q-PLUS™-Green Real Time qPCR Master Mix, (2x) and vortex briefly. Once ROX has been added, the Master Mix can be used directly or stored at -20°C for up to 1 year.

PROTOCOL

1. Gently vortex and briefly centrifuge kit components after thawing.
2. Place a tube on ice and add the following components for each 20 μ L reaction. Prepare sufficient master mix for the number of reactions. Consider one or two extras:

Components	Volume	Final Concentration
Q-PLUS™ Green qPCR Master Mix (2x)*	10 μ L	1x
Forward primer (5 pmol/ μ L)	<2 μ L	50-400 nM
Reverse primer (5 pmol/ μ L)	<2 μ L	50-400 nM
Template DNA (step 5)	**	**
PCR Grade Water	up 20 μ L	
Final Volume	20 μL	

* ROX as required; see section: "ROX Reference Dye"

** Optimal amounts of template: genomic DNA <1 μ g, plasmid or viral DNA 1-50 ng, cDNA synthesis reaction 1-5 μ L (or <100 ng).

3. Dispense the master mix into wells of PCR plate.
4. Gently vortex and spin down the samples.
5. Add in each well the DNA sample. Mix well by pipetting.
6. Seal the PCR plate with optical film.
7. Set-up qPCR cycling (if applicable, select fast mode on the instrument*):

Suggested thermal cycling conditions:

Process	Cycles	Temperature	Time
Enzyme Activation	1 x	95 °C	2-3 min
Denaturation	40 x	95 °C	5 sec
Annealing/ Extension		60-65°C	20-30sec**
Dissociation/Melt Analysis	See your instrument guidelines for setup.		

* For efficient qPCR, under fast cycling conditions, it is recommended to amplify DNA fragments ranging from 80-200bp.

** Select the shortest time possible but not less than 20 sec and do not exceed 30 seconds. Primers should have melting temperature of approximately 60°C.

In case of 3-step cycling, anneal at optimal annealing temperature for 20 sec and minimum time necessary at 72°C for data acquisition (according to manufacturer's guidelines).

Q-PLUS™-Green Real Time qPCR Master Mix (2x)

Referencias

TBK0055, 5 reacciones (muestra)

TBK0057, 400 reacciones

TBK0059, 1000 reacciones

TBK0056, 200 reacciones

TBK0058, 500 reacciones

Descripción

Q-PLUS™-Green Real Time qPCR Master Mix (2X) es una mezcla optimizada diseñada para su uso en PCR cuantitativa en tiempo real. El kit incluye una mezcla maestra de qPCR en formato 2x. Esta mezcla incorpora todos los componentes esenciales para la PCR en tiempo real, incluidos dNTPs, estabilizadores y potenciadores, diseñados para la amplificación y detección eficiente de ADN en qPCR. El kit también incluye un vial separado de ROX que se puede añadir opcionalmente a la mezcla de reacción de qPCR. La concentración final de ROX variará según las especificaciones del fabricante de cada termociclador en tiempo real.

Características

- **Lista para usar.**
- **Mayor especificidad y sensibilidad,** amplifica objetivos de bajo número de copias con reducción de señales no específicas.
- **Compatible con programas de PCR rápido y estándar.**

Referencia ROX

El uso de ROX es una referencia pasiva necesaria para ciertas máquinas de PCR en tiempo real, ya que compensa las variaciones en la detección de fluorescencia que no están relacionadas con la PCR. La fluorescencia emitida por ROX permanece constante durante todo el proceso de PCR en tiempo real, proporcionando una línea base estable contra la cual se pueden normalizar las señales fluorescentes relacionadas con la PCR. Como resultado, ROX puede compensar las diferencias que puedan surgir debido a ligeras variaciones en el volumen de reacción o diferencias en la posición del pocillo.

Dependiendo de su equipo, y antes de usar por vez primera, añadir 2 µL (Bajo ROX) o 20 µL (Alto ROX) del compuesto de referencia ROX suministrado a 1 mL Q-PLUS™ Green qPCR Master Mix (2x) y dar un vortex breve. Una vez que el ROX ha sido añadido, la mezcla puede ser usada directamente o conservada a -20°C durante 1 año.

Componentes

Componentes	TBK0056	TBK0057	TBK0058	TBK0059
Q-PLUS™-Green Real Time qPCR Master Mix	2x 1mL	4x 1mL	5x 1mL	10x 1mL
PCR Grade Water	2 mL	2x 2mL	3x 2 mL	5x 2mL
ROX reference dye	1 vial	1 vial	1 vial	2 vial

Referencia Componentes: ROX Reference Dye (TBR0278) | PCR Grade Water, nuclease free (TBB0303).

Almacenaje

Se envía en hielo azul. Al recibirlo, los componentes del kit deben almacenarse inmediatamente a -20°C. Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas. Mantener en frío cuando esté descongelado.

Aplicaciones

- PCR cuantitativa para cuantificar ADN/ ADN copia, determinación del número de copias, expresión génica, detección de microbios, etc.
- Genotipado.

Asistencia Técnica

Por favor, dirija cualquier pregunta técnica a support@tiarisbiosciences.com.

Estaremos encantados de ayudarle!

PROTOCOLO

- Tras descongelar los componentes del kit, dar un vortex suave a los tubos y centrifugar brevemente.
- Coloque un tubo sobre hielo y agregue los siguientes componentes para cada reacción de 20 μ L. Prepare suficiente mezcla para el número de reacciones. Considere preparar una o dos reacciones adicionales:

Componentes	Volumen	Concentración Final
Q-PLUS™ Green qPCR Master Mix (2x)*	10 μ L	1x
Forward primer (5 pmol/ μ L)	<2 μ L	50-400 nM
Reverse primer (5 pmol/ μ L)	<2 μ L	50-400 nM
ADN Molde (paso 5)	**	**
PCR Grade Water	up 20 μ L	
Volumen Final	20 μL	

* ROX requerido; ver sección "Referencia ROX"

** Cantidad óptima de molde: ADN genómico <1 μ g, plásmido o ADN viral 1-50 ng, reacción de síntesis de cDNA 1-5 μ L (o <100 ng)

- Dispensar la mezcla en los pocillos de la placa de PCR.
- Dar un vortex suave y un spin a las muestras.
- Añadir en cada pocillo la muestra de ADN. Mezclar bien por pipeteo.
- Sellar la placa de PCR con film óptico.
- Programar la qPCR (si es aplicable, seleccionar el modo fast del equipo):

Condiciones sugeridas:

Proceso	Ciclos	Temperatura	Tiempo
Activación Enzima	1 x	95 °C	2-3 min
Desnaturalización	40 x	95 °C	5 seg
Anillamiento/ Extensión		60-65°C	20-30 seg**
Disociación/ Melting	Ver las instrucciones del equipo para programarlo		

* Para una qPCR eficiente, bajo el modo fast, es recomendable amplificar fragmentos de ADN en el rango de 80-200 pb.

** Seleccionar el menor tiempo posible pero no menos de 20 segundos y no más de 30 segundos. No usar primers con T_m por debajo de 60°C.

En caso de incluir 3 pasos en cada ciclo, anillar a la temperatura óptima durante 20 seg y use el tiempo mínimo necesario para adquirir los datos a 72°C, de acuerdo con las instrucciones del equipo.