

## qPCR Visible Blue Mark

(katalogové číslo B129)

rev. 04/2025

### Popis produktu

qPCR Visible Blue Mark je barvivo zvyšující viditelnost reakčních směsí pro PCR a tím umožňuje pracovat s větší rychlostí a přesností při manipulaci s malými objemy reagentů ve zkumavkách, stripech nebo více-jamkových destičkách (viz Obr. 1). Přítomnost barviva je zvláště výhodná pro genotypizaci jednonukleotidových polymorfismů (SNP) a vysoce výkonnou analýzu genové exprese s využitím více-jamkových destiček. Přítomnost barviva, pokud se používá podle návodu, neovlivňuje účinnost PCR, neinterferuje s široce používanými fluorescenčními barvivy pro qPCR, jako jsou SYBR Green, EvaGreen nebo detekcí na bázi sond. qPCR Visible Blue Mark je optimalizován pro různé Master Mixy Top-Bio provenience, včetně Master Mixů pro PCR s horkým startem. qPCR Visible Blue Mark je kompatibilní s řadou přístrojů pro PCR v reálném čase. S výhodou lze qPCR Visible Blue Mark přidávat přímo do master mixů nebo jej použít jako součást komponent PCR přidávaných ve vybraném kroku.

### Technické údaje

#### Komponenty základního balení

- 1 zkumavka se 100  $\mu$ l 200x koncentrovaného barviva qPCR Visible Blue Mark umožňuje připravit 1000 PCR reakčních směsí po 20  $\mu$ l.

#### Skladování

- Barvivo lze skladovat ve tmě při teplotě  $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  po dobu do 12 měsíců; při teplotě  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  po dobu do 1 měsíce. Transport je realizován obvykle při pokojové teplotě.

#### Složení

qPCR Visible Blue Mark je 200x koncentrované netoxické modré barvivo v 75 mM Tris-HCl, pH 8,0 (při 25°C), doplněné stabilizátory a aditivy.

#### Kontrola kvality

- Každá šarže produktu je testována v qPCR s použitím fluorescenčního barviva SYBR Green I. V přítomnosti barviva není pozorován žádný rozdíl v účinnosti qPCR. Typický výsledek takového testování je uveden v Obr. 2.

Kat. č.	Název výrobku a specifikace	Množství
B129	qPCR Visible Blue Mark	100 $\mu$ l



## Protokol

Následující protokol je vodítkem a měl by být optimalizován podle konkrétních aplikací. V konečné reakční směsi pro qPCR musí být qPCR Visible Blue Mark ředěn 200x.

### **A. Přidání barviva qPCR Visible Blue Mark do Master Mixu pro qPCR**

1. Rozmrazit 200x koncentrované barvivo qPCR Visible Blue Mark a Master mix (např. qPCR 2x Blue Master mix, 500 µl; Top-Bio, kat. č. P521) při pokojové teplotě.
2. Důkladně promíchat a krátce centrifugovat. Poté zkumavky uchovávat na ledu a chráněné před světlem.
3. Do 500 µl 2x koncentrovaného Master mixu přidat 5 µl barviva qPCR Visible Blue Mark.
4. Důkladně promíchat a krátce centrifugovat. Zkumavky dále uchovávat na ledu, chráněné před světlem.
5. Pro 20 µl PCR reakci napipetovat 10 µl qPCR master mix do vícejamkových destiček, stripů nebo zkumavek a poté 10 µl zbývajících komponent (DNA, primery, sondy). Při vkládání do průhledných zkumavek nebo destiček je vhodné pro lepší viditelnost umístit materiály na bílé pozadí.

### **B. Přidání barviva qPCR Visible Blue Mark do vzorku testované DNA**

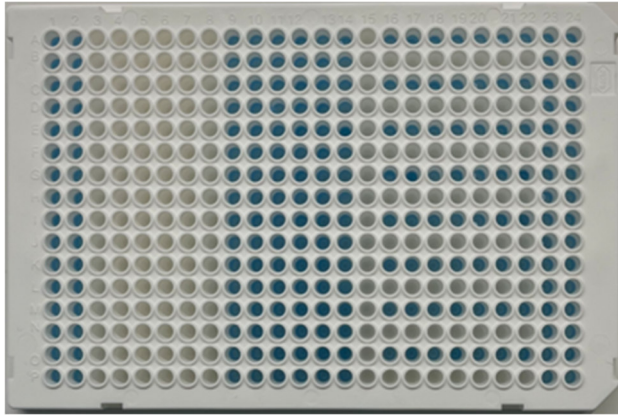
Barvivo lze přidat ke vzorku DNA pro sledování přidání templátové DNA nebo cDNA do jamek.

1. Rozmrazit při pokojové teplotě 200x koncentrovaný qPCR Visible Blue Mark a vzorky s DNA.
2. Důkladně promíchat qPCR Visible Blue Mark a zkumavku krátce centrifugovat. Zkumavku uchovávat na ledu, chráněné před světlem.
3. Napipetovat příslušné množství qPCR Visible Blue Mark do zkumavky s DNA. Nutno vzít do úvahy, že Blue Mark musí být v konečné PCR směsi naředěn 200x. Viz příklady v tabulce 1.

**Tabulka 1. Příklad objemů (v µl) pro přidání qPCR Visible Blue Mark do vzorků s templátovou DNA**

Konečný objem PCR	Objem templátové DNA do PCR	Vzorek DNA Objem	200x qPCR Visible Blue Mark Objem do vzorku DNA
20	4	100	2.5
20	2	20	1
10	2	100	2.5
10	1	20	1

**Obr. 1.** qPCR Visible Blue Mark usnadňuje pipetování do multi-jamkových destiček. Do jamek 384-jamkové destičky byly vpraveny 10  $\mu$ l alikvoty qPCR 2xSYBR Master Mix (sloupce 3-8) nebo 10  $\mu$ l alikvoty qPCR 2x SYBR Master Mix\_BLUE, obsahující 100x ředěný qPCR Visible Blue Mark (sloupce 1, 2, 9-14, 23, 24). Ve sloupci 16-22 byl qPCR 2xSYBR Master Mix\_BLUE napipetován jen do řádek A, C, E, G, I, K, M a O. Ve sloupci 15 zůstaly všechny jamky prázdné.



**Obr. 2.** qPCR Visible Blue Mark neovlivňuje účinnost qPCR. qPCR 2x Blue Master Mix (Top-Bio, kat. č. P521) byl doplněn (modré křivky) nebo ne (zelené křivky) o qPCR Visible Blue Mark (konečné ředění 1:200), SYBR Green 1, DNA templát v pěti desetinásobných ředěních a odpovídající primery. Do testu byla také zahrnuta kontrola bez DNA templátu (NTC). Vzorky ve trojicích byly analyzovány pomocí cykleru pro real-time PCR.

