

1. Perles de PCR Ready-To-Go™ Cytiva Illustra puReTaq:

Vous avez besoin de/d'
Un Thermocycleur (appareil de PCR)
Des billes Cytiva Illustra PCR ¹ (séchées comme une seule bille dans un tube)
Des amorces - 1 ou 2 µL de chaque amorce
Le modèle d'ADN en poinçon FTA ou autre échantillon
De l'eau de qualité biologie moléculaire
Des tubes PCR supplémentaires pour diviser le prémélange en deux

1. Les billes Cytiva PCR sont fournies dans une pochette scellée car elles sont sensibles à l'humidité. Une fois la poche est ouverte, tous les tubes inutilisés doivent être conservés dans un dessiccateur contenant un dessiccatif actif (gel de silice - voir page 39).
2. Chaque tube contient une seule bille et est constitué d'un mélange réactionnel de 25 µL ². Le prémélange peut être divisé en deux tests PCR à l'aide des tubes supplémentaires fournis. Il n'y a aucune perte
3. Ajoutez 1 ou 2 µL d'amorces avant et arrière chacune dans le tube.
4. Mélangez délicatement le contenu du tube. La réaction est complètement dissoute et mélangée lorsque la solution apparaît clair.
5. Chargez les tubes sur le thermocycleur et exécuter le programme PCR choisi.

Remarques:

¹ Composition d'une bille Cytiva PCR: Stabilisateurs; BSA; dNTP; 2,5 unités d'ADN polymérase puReTaq et tampon de réaction.

² Lorsqu'une bille est reconstituée à un volume final de 25 µl, la concentration de chaque dNTP est de 200 µM dans du Tris-HCl 10 mM (pH 9,0 à température ambiante), du KCl 50 mM et du MgCl₂ 1,5 mM.

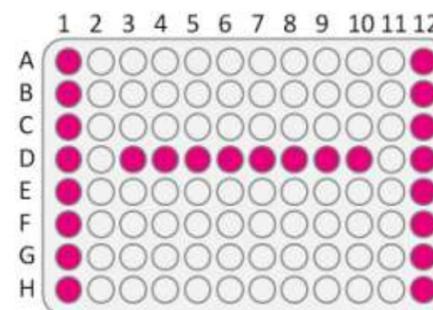
2. Thermocycleur ABI SimpliAmp



Les protocoles de PCR pour les thermocycleurs ABI se trouvent dans le manuel d'instructions fourni et les versions PDF des manuels d'instructions peuvent être trouvées sur le site Web de Kirkhouse Trust: www.kirkhousetrust.org, aller à 'Resources → Research Resources → Equipment Manuals'.

Les astuces et les conseils:

Pour tous les thermocycleurs, assurez-vous que tous les consommables utilisés dans le bloc sont de la même hauteur et répartis uniformément sur le bloc. Insérez des tubes "factices" vides si nécessaire dans chaque coin pour répartir uniformément la pression du couvercle chauffant.



Un exemple de placement de tubes PCR pour garantir que le couvercle chauffant applique une pression uniforme sur les couvercles des tubes. Certains tubes peuvent être des tubes «factices» remplis uniquement d'eau ou de tampon.