

## VIC CALIBRATION KIT 100µL PCR-GEFÄßE

Zur Farbkalibrierung / Color Compensation  
von Thermocyclern im Mikrotiter Plattenformat 100µl

Art.-Nr. 2048-100

**!** **Achtung!** Lesen Sie die Gebrauchsanweisung und die Sicherheitsdatenblätter vor Beginn der Analyse aufmerksam durch. Die Sicherheitsdatenblätter sind im Downloadbereich auf [www.pika-weihenstephan.de](http://www.pika-weihenstephan.de) zu finden. Alle Probenbearbeitungsschritte sollten möglichst unter sterilen Bedingungen durchgeführt werden. Tragen Sie während der Ausführung der Analyse adäquate Schutzbekleidung und puderfreie Einweghandschuhe. Die Verwendung von Filter-Pipettenspitzen wird empfohlen. Dieses Produkt ist ausschließlich für Forschungszwecke zu verwenden.

### Produktbeschreibung

Das VIC Calibration Kit wurde entwickelt um das real time PCR System vor der ersten Verwendung mit unseren PCR Kits zu kalibrieren. Die Kalibrierung wird für manche Thermocycler benötigt um Crosstalk zwischen den Farbstoffen FAM-TAMRA und VIC-TAMRA zu verhindern.

### Kit Inhalt

Mitgelieferte Materialien, ausreichend für 24 Reaktionen

Bezeichnung	Volumen	Lagerung*
<b>Reagenzien für die Kalibrierung</b>		
Rehydratisierungspuffer B (weißer Deckel)	1 x 5.0 ml	4°C
PCR-Gefäße (8er-Streifen) für die FAM Kalibrierung	1	
PCR-Gefäße (8er-Streifen) für die VIC Kalibrierung	1	
PCR-Gefäße (8er-Streifen) ohne Farbstoff	1	
Deckelstreifen (8er-Streifen) zum Verschließen der PCR-Gefäße	3	4°C oder Raumtemperatur

\* Kit wird bei Raumtemperatur versendet

### Benötigte Materialien, die nicht mitgeliefert werden

Material
<b>Instrumente und Equipment</b>
Real-time PCR System im Mikrotiter Format (0,1 ml Gefäße) mit Mess-Kanälen für FAM (520 nm Emission) und VIC/HEX (550 nm Emission)
Plattenzentrifuge oder Adapter für 8er Streifen
Pipetten
<b>Verbrauchsmaterialien und Reagenzien</b>
Puderfreie Einweghandschuhe
1,5 ml Reaktionsgefäße, safe-lock, steril
Filterspitzen
2-fach konzentrierter Master Mix mit DNA Polymerase + dNTPs + MgCl <sub>2</sub>

### Kalibrierung

Alle Reaktionskomponenten mit Ausnahme von 2-fach konz. Master Mix werden bereits getrocknet in den PCR Gefäßen mitgeliefert. Die PCR Gefäße beinhalten zudem die Farbstoffe FAM, VIC oder keinen Farbstoff (Negativ Kontrolle).

### Herstellung und Verteilung des PCR-Rehydratisierungsmixes

Bereiten Sie so viele PCR Gefäße für jeden Farbstoff vor wie vom Hersteller des Thermocyclers empfohlen wird. Wir empfehlen eine Negativkontrolle pro PCR mitlaufen zu lassen.

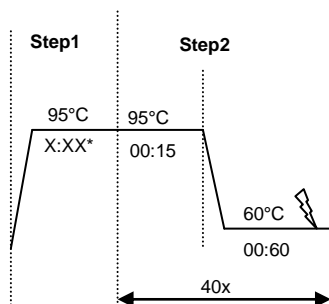
1. Die benötigte Menge an Reagenzien berechnen, welche für den Rehydratisierungsmix benötigt wird (Tabelle 1)
2. Alle Komponenten in der angegebenen Reihenfolge in ein 1,5 ml steriles Reaktionsgefäß pipettieren
3. Reaktionsgefäß schließen, schütteln und zum Sammeln kurz anzentrifugieren

Komponenten	Pro PCR-Reaktion	+ 10% als Pipettierreserve	Multipliziert mit Probenzahl n	Gesamtes Volumen für Rehydratisierungsmix
Rehydratisierungspuffer B	15.0 µL	1.5 µL	x n	= 16.5 µL x n
2-fach konz. Master Mix	15.0 µL	1.5 µL	x n	= 16.5 µL x n
Gesamtvolumen Rehydratisierungsmix	30.0 µL	3.0 µL	x n	= 33.0 µL x n

Tabelle 1: Herstellung des Rehydratisierungsmixes

### Verarbeitung der Proben für die PCR

1. 30 µl des Rehydratisierungsmixes werden pro PCR-Gefäß pipettiert
1. PCR-Gefäße mit Deckelstreifen (im Produkt enthalten) verschließen, Deckel nicht mit bloßen Händen berühren!
2. Optional: kurz anzentrifugieren (max. bei 2.000 U/min)
3. PCR-Gefäße in den Thermocycler stellen und bereiten sie **nach den Herstellerangaben des Thermocyclers eine Datei zur Kalibrierung vor**. Stellen Sie bitte folgendes Temperaturprogramm ein:



⚡ : Messpunkt

\*Aktivierungszeit ist abhängig vom verwendeten Master Mix (siehe Herstellerangaben)

4. Überprüfen Sie, ob die Datei korrekt nach Herstellerangaben abgespeichert wurde.
5. Zu erwartende Ct Werte von Messungen mit Referenzgeräten:
  - VIC: 25
  - FAM: 24
  - Kein Farbstoff: kein Ct Wert



PIKA Weihenstephan GmbH  
Raiffeisenstraße 31A  
85276 Pfaffenhofen  
DEUTSCHLAND  
Tel +49 (0) 8441 879 48 30  
Fax +49 (0) 8441 879 48 31

www.pika-weihenstephan.de  
order@pika-weihenstephan.de

**Anmerkungen: Anwendungen:** Das Produkt ist ausschließlich für Forschungszwecke zu verwenden.  
**Schutzrechte:** Die Verwendung unserer Produkte kann Schutzrechte Dritter berühren. Der Erwerb unserer Produkte beinhaltet nicht das Recht zur Durchführung der PCR oder Ihre Verwendung in der Diagnostik. Wir weisen darauf hin, dass für die Anwendung unserer Applikationen in der PCR lizenziertes Zubehör (Thermocycler, Taq Polymerase) verwendet werden muss. PIKA Weihenstephan GmbH übernimmt keinerlei Verantwortung für die rechtmäßige Anwendung der Applikation; diese liegt ausdrücklich und ausschließlich beim Nutzer. **PCR:** Die Durchführung der Polymerase Chain Reaction ist patentrechtlich geschützt; für die kommerzielle Anwendung ist eine Lizenz von den Firmen Roche und/oder Applied Biosystems erforderlich. "No license under these patents to use the PCR process is conveyed expressly or by implication to the purchaser by the purchase of this product. Further information on purchasing licenses to practice the PCR process may be obtained by contacting the Director of Licensing at Roche Molecular Systems, Inc., 1145 Atlantic Avenue, Alameda, California 94501."  
PIKA Weihenstephan® ist eine in Deutschland und anderen Ländern eingetragene Marke.