

### **SUPER MIX RT-PCR 2X**

No de catálogo: RT -PCR-TR 50 50 Reacciones No de catálogo: RT -PCR-TR 100 100 Reacciones

Mezcla de Reacción para Transcripción Reversa y PCR para Punto Final o Tiempo Real en un solo paso empleando sondas TaqMan.

Almacenar a -20°C

# DESCRIPCIÓN

La **Super Mix RT-PCR 2X** es una mezcla calibrada, para llevar a cabo en **un solo paso**, la transcripción reversa (RT) y amplificación por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en **PCR-Punto Final o en Tiempo Real** de un transcrito, usando iniciadores

específicos y sondas TagMan, a partir de RNA total o RNA mensajero.

La **Super Mix RT-PCR 2X** contiene un amortiguador optimizado para RT y PCR, deoxinucleótidos trifosfatados (dNTP´s), MgCl<sub>2</sub>, Taq ADN Polimerasa, M-MLV RT (Transcriptasa reversa del Moloney Murine Leukemia Virus) sin actividad de RNasa H y un inhibidor de RNAsas. Aunque generalmente las reacciones de RT-PCR amplifican en las condiciones proporcionadas por la mezcla, se incluye un vial con 30mM MgCl<sub>2</sub> para ajustar la concentración de Mg++ si es necesario.

La cantidad de material de inicio puede ir desde 0.5 µg - 5 µg de RNA total.

#### **MODO DE EMPLEO:**

- 1.- Mezcle en un tubo el RNA (generalmente 5 μl), los iniciadores\* y H<sub>2</sub>O DEPC cpb 10μl.
- 2.- Añada 10 µl de la Super Mix RT-PCR 2X
- 3.- Someta el tubo a síntesis del cDNA y amplificación en un termociclador.

## Programación del equipo para RT-PCR tiempo real:

1 ciclo (42°C/30min, 95°C/10min), 40 ciclos (95°C/15seg, 60°C/45seg).

"Asegúrese que el equipo detecta en los canales del fluorocromo de su sonda".

#### Programación del equipo para RT-PCR punto final:

1 ciclo (42°C/30 min, 95°C/ 10 min), 30 ciclos (95°C/30seg, X°C/30seg, 72°C/30-90seg), 1 ciclo (72°C/5min). X=la temperatura de hibridación depende de la secuencia de su primer.

CONTENIDO: 2 -4 viales con 250 $\mu$ L de Super Mix RT-PCR 2X (25 reacciones c/u), 1 vial 500  $\mu$ l de 30mM MgCl<sub>2</sub>, 1 vial 500  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O DEPC.

<sup>\*</sup>Se recomienda agregar los iniciadores a una concentración final de  $0.5~\mu M$ , y  $5~\mu I$  de RNA (en ocasiones el RNA puede traer inhibidores, por lo que es recomendable diluirlo  $1/5~\gamma$  utilizar  $5~\mu I$  de esta dilución en la reacción). En caso de realizar RT-PCR en tiempo real, adicionar sonda TaqMan a una concentración final de  $0.1~\mu M$