

AmpFSTR® NGM SElect™ PCR-Amplifizierungs-Kit – PCR-Vorbereitung

Hinweis: Richtlinien zur Sicherheit und Biogefährdung finden Sie im Anhang „Sicherheit“ im *AmpFSTR® NGM SElect™ PCR Amplification Kit User's Guide* (PN 4458841). Lesen Sie die Sicherheitsdatenblätter aller Chemikalien und befolgen Sie die Gebrauchsanweisung. Tragen Sie eine geeignete Schutzbrille sowie Schutzkleidung und -handschuhe.

Produktüberblick

Bei dem AmpFSTR® NGM SElect™ PCR-Amplifizierungs-Kit handelt es sich um ein Short Tandem Repeat (STR) Multiplex Assay zur Amplifizierung von 15 STR-Loci, das gemeinsam mit dem hochpolymorphen SE33 (ACTBP2)-Locus und dem geschlechtsspezifischen Locus Amelogenin im AmpFSTR® NGM™-Kit enthalten ist. Weitere Informationen finden Sie im *AmpFSTR® NGM SElect™ PCR Amplification Kit User's Guide* (PN 4458841).

Allgemeine Vorbereitung

Legen Sie zu Beginn diese Kurzanleitung in den Arbeitsbereich des Labors, in dem Sie die PCR vorbereiten.

Vorbereitung der PCR

PCR-Kit-Reaktionen ansetzen

1. Berechnen Sie das Volumen jeder zum Ansetzen der Reaktionen erforderlichen Komponente mithilfe der unten stehenden Tabelle.

| DNA-Probenmaterial | Volumen pro Reaktion |
|---------------------------------|----------------------|
| AmpFSTR® NGM SElect™ Master Mix | 10,0 µl |
| AmpFSTR® NGM SElect™ Primer Set | 5,0 µl |

Hinweis: Berücksichtigen Sie bei Ihren Berechnungen zusätzliche Reaktionen, mit denen Sie die beim Transfer von Reagenzien auftretenden Flüssigkeitsverluste kompensieren können.

2. Setzen Sie die Reagenzien an. Tauen Sie den AmpFSTR® NGM SElect™ Master Mix und das AmpFSTR® NGM SElect™ Primer Set auf. Anschließend vortexen Sie die Röhrchen 3 Sekunden lang und zentrifugieren sie kurz vor dem Öffnen.

WICHTIG! Das Auftauen ist nur vor dem ersten Gebrauch des Kits erforderlich. Nach dem ersten Gebrauch werden die Reagenzien bei 2 bis 8 °C gelagert und müssen daher nicht mehr aufgetaut werden. Die Reagenzien sollten nicht wieder eingefroren werden.

3. Pipettieren Sie das erforderliche Volumen der Komponenten in ein Polypropylen-Gefäß geeigneter Größe.
4. Vortexen Sie das Reaktionsgemisch 3 Sekunden lang. Anschließend zentrifugieren Sie es kurz.
5. Verteilen Sie 15 µl des Reaktionsgemisches in die entsprechenden Wells einer MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate oder in jeweils ein MicroAmp® Tube.
6. Bereiten Sie die DNA-Proben wie in der Tabelle unten beschrieben vor. Das endgültige Reaktionsvolumen sollte 25 µl betragen.

| DNA-Probenmaterial | Vorbereitung |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Negativkontrolle | Geben Sie 10 µl eines Low-TE-Puffers (10 mM Tris, 0,1 mM EDTA, pH 8,0) hinzu. |
| Testprobe | Verdünnen Sie einen Teil der Proben-DNA mit Low-TE-Puffer, sodass das Endvolumen von 10 µl insgesamt 1,0 ng DNA enthält. Geben Sie 10 µl der verdünnten Probe in das Reaktionsgemisch. |
| Positivkontrolle | Geben Sie 10 µl der 007-Kontroll-DNA (0,1 ng/µl) hinzu, um einen Gesamtgehalt von 1,0 ng DNA im Reaktionsansatz der Positivkontrolle zu erhalten. |

7. Versiegeln Sie die MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate mit MicroAmp® Clear Adhesive Film oder MicroAmp® Optical Adhesive Film bzw. verschließen Sie die Reaktionsgefäße mit Deckeln.
8. Zentrifugieren Sie die Reaktionsgefäße oder Platten 20 Sekunden bei 3000 U/Min in einer Tischzentrifuge (mit Plattenhaltern, wenn 96-Well-Platten verwendet werden), um Luftblasen zu entfernen.
9. Amplifizieren Sie die Proben in einem GeneAmp® PCR System 9700 mit dem Silber-96-Well-Block oder einem GeneAmp® PCR System 9700 mit dem vergoldeten Silber-96-Well-Block.

Hinweis: Das AmpFSTR® NGM SElect™-Kit ist nicht für den Einsatz mit dem GeneAmp PCR System 9700 mit dem Aluminium-96-Well-Block validiert. Die Verwendung dieser thermischen Wechselbelastungsplattform kann das Leistungsvermögen des AmpFSTR® NGM SElect™-Kit beeinträchtigen.

PCR und Kapillarelektrophorese durchführen

Informationen zur Durchführung der PCR-Amplifizierung und Kapillarelektrophorese finden Sie in der *AmpFSTR® NGM SElect™ PCR Amplification Kit-PCR Amplification and CE Quick Reference Card (Kurzanleitung zum AmpFSTR® NGM SElect™ PCR-Amplifizierungs-Kit – PCR-Amplifizierung und Kapillarelektrophorese)* (PN 4458843 [4464652]) und im *AmpFSTR® NGM SElect™ PCR Amplification Kit User's Guide* (PN 4458841).

© 2012 Life Technologies Corporation. Alle Rechte vorbehalten. Die im Dokument genannten Marken sind Eigentum der Life Technologies Corporation oder ihrer jeweiligen Eigentümer. TaqMan ist eine eingetragene Marke von Roche Molecular Systems, Inc.

Part Number 4464651 Rev. C 03/2012 Translated from the English 4458842 Rev. B
