

**Na štítku výrobku zkontrolujte aktuální katalogové číslo, šarži a datum spotřeby.**

## Sada pro izotermickou amplifikaci RNA v 1 kroku ALLin™

CAT.#	VELIKOST	KOMPONENTY	SLOŽENÍ SOUČÁSTI
IRK0101	100 r	1,25 ml - ALLin™ Isothermal Amplification Mix, 2X	1X izotermická amplifikační směs obsahuje rekombinantní Bst DNA polymerázu (velký fragment), 3 mM MgSO <sub>4</sub> , 1,6 mM dNTP, enhancery, stabilizátory. RT5 Mix obsahuje termostabilní reverzní transkriptázu (modifikovanou MMuLV) a termostabilní inhibitor RNázy.
	25 µl	0,125 ml - Kvantitativní fluorescenční barvivo, 20X 0,2 ml - směs RT5 1 ml - voda	
IRK0105	500 r	5 x 1,25 ml - ALLin™ Isothermal Amplification Mix, 2X	Kvantitativní fluorescenční barvivo, 20X se použije, pokud reakce probíhá v qPCR cyklorech a detekce v reálném čase se provádí v kanálu FAM.
	25 µl	5 x 0,125 ml - Quantitative Fluorescent Dye, 20X 5 x 0,2 ml - směs RT5 5 x 1 ml - voda pro PCR	

Úložiště Ve tmě při -20 °C.

### APLIKACE

- Detekce virové RNA, detekce SARS-CoV-2
- Izotermická jednopřuhová amplifikace RNA při zvýšené teplotě
- RT-LAMP - reverzní transkripce zprostředkovaná izotermická amplifikace
- Výzkum v oblasti molekulární diagnostiky

### PODROBNOSTI O PRODUKTU

ALLin™ Isothermal 1Step RNA Amplification Kit umožňuje detekci < 5 cílových molekul RNA v krátkém čase 30 minut bez použití PCR cyklu. Součástí soupravy je směs RT5, směs termostabilní reverzní transkriptázy a vysoce účinného inhibitoru RNázy, která slouží k počáteční syntéze cDNA z templátů RNA. cDNA je amplifikována polymerázou Bst. Sada obsahuje 2X master mix s optimalizovaným vysoce účinným pufrům, dNTP a rekombinantním velkým fragmentem Bst polymerázy, který má silnou aktivitu vytěšňování 5' - 3' vláknů a účinnou aktivitu 5' - 3' polymerázy pracující při 55 - 70 °C. Polymeráza nemá 5' - 3' ani 3' - 5' exonukleázovou aktivitu a zachovává si pouze malou aktivitu reverzní transkripce. Souprava obsahuje také vodu pro PCR; uživatel musí dodat pouze templáty a primery. Kvantitativní fluorescenční barvivo, 20X, je součástí dodávky pro volitelné použití, pro detekci v reálném čase v kanálu FAM na jakémkoli qPCR cyklu. Sada ALLin™ Isothermal 1Step RNA Amplification Kit je nástrojem volby pro izotermickou amplifikaci templátů RNA a takové aplikace, jako je RT LAMP, s další výhodou reakcí s vyšší teplotou, což zefektivňuje amplifikaci komplexních a na GC bohatých templátů.

### VÝHODY

- Efektivní 30 minut 1 krok amplifikace RNA při teplotě 55 - 70 °C
- Formát ALLin™, dodávaný s vodou a barvivem pro rychlou detekci v reálném čase
- Bst DNA polymeráza se silnou aktivitou vytěšňování vláken
- Termostabilní reverzní transkriptáza smíchaná s inhibitorem RNázy
- Robustní na složitých šablonách RNA a surových vzorcích
- Detekce cílů s nízkým počtem kopií (<5 molekul)

### VÝKON

Technické vlastnosti Bst DNA polymerázy (velký fragment):

- Silná aktivita posunu 5' - 3' vláknů
- 5' - 3' polymerázová aktivita
- Žádná 5' - 3' exonukleázová aktivita
- Žádná 3' - 5' exonukleázová (korekturní) aktivita
- Menší aktivita reverzní transkriptázy
- Optimální teplota amplifikace je 65 °C.
- Rozsah pracovních teplot je 55 - 70 °C.
- Enzym Bst je inaktivován za 10 minut při 80 °C.
- RT5 Mix obsahuje termostabilní reverzní transkriptázu (modifikovanou MMuLV) pracující při vysokých teplotách a termostabilní inhibitor RNázy chránící templátovou RNA před degradací.
- Optimální doba amplifikace 1Step RT je 30 minut, v případě potřeby lze reakci prodloužit na 30-60 minut.
- Kvantitativní fluorescenční barvivo má excitační maximum při 482 nm a emisní maximum při 512 nm.

Na použití tohoto výrobku v určitých aplikacích se mohou vztahovat patenty. Uživatel musí analyzovat všechny příslušné licence na označení omezeného použití a v určitých případech může potřebovat licenci.

### PŘÍKLAD PROTOKOLU IZOTERMICKÉ AMPLIFIKACE

- Přijměte typická opatření, abyste zabránili degradaci RNA, udržujte stůl v čistotě, používejte rukavice, sterilní zkumavky a filtrační pipety.
- Zahrňte paralelně kontrolu bez šablony a pozitivní kontroly.
- Reagencie rozmrazte a uchovávejte v ledu. Před použitím je dobře promíchejte.
- Reakci provádějte při teplotě 65 °C. V případě potřeby optimalizujte reakční teplotu v rozmezí 55-70 °C pro každý systém šablon/primerů. Složitější templáty mohou vyžadovat vyšší teplotu.
- Doporučená reakční doba je 30 minut. U některých cílů s nízkým počtem kopií může být zapotřebí 30 až 60 minut.
- Kvantitativní fluorescenční barvivo, 20X se používá pouze při provádění reakce v cyklu reálného času. Detekce se provádí v kanálu FAM a data se získávají každých 15 sekund.
- Navrhněte primery s předpokládanou teplotou tání přibližně 60 °C.
- Připravte si 10x směs primerů ve vodě nebo TE pufru, například pro RT LAMP: 16 µM FIP, 16 µM BIP, 2 µM F3, 2 µM B3, 8 µM LoopF, 8 µM. SmyčkaB.

POUZE PRO VÝZKUM IN VITRO

✓ Připravte reakci o objemu 25 µl:

ALLin™ Isothermal Amplification Mix, 2X	12,5 µl
Volitelně: Kvantitativní fluorescenční barvivo, 20x	1,25 µl
RT5 Mix (RTáza s inhibitorem RNázy)	2 µl
Směs primerů 10X (variabilní, závisí na aplikaci)	2,5 µl
Šablona RNA (variabilní, závisí na aplikaci)	1 µl
PCR Voda (dodána)	do 25 µl
✓ Míchejte opatrně, aby nevznikaly bubliny.	
✓ Vložte do termostatu nebo qPCR přístroje a inkubujte:	
Amplifikace	65 °C - 30 min
teplota se může pohybovat v rozmezí 55 - 70 °C, doba	20 - 60 min
Volitelně: Inaktivace	80 °C - 10 min
Reakce skladujte krátkodobě na ledu, dlouhodobě při -20 °C.	

F: +49 7250 33 11 413  
[order@highQu.com](mailto:order@highQu.com)  
[www.highQu.com](http://www.highQu.com)

**PRODEJ**  
T: +49 7250 33 13 401  
F: +49 7250 33 11 413  
[sales@highQu.com](mailto:sales@highQu.com)

**TECHNICKÁ PODPORA**  
T: +49 7250 33 13 401  
F: +49 7250 33 11 413  
[tech-support@highQu.com](mailto:tech-support@highQu.com)

profesionálně jednoduché™