

**VisionArray®** Arrays for DNA analysis

Der VisionArray MYCO PreCise Master Mix 2.0 wird verwendet um spezifische Bereiche der ITS Region, beziehungsweise IS6110 Region, des Mykobakterien-Genoms mittels PCR zu amplifizieren. Für die Detektion sollte das VisionArray Detection Kit in Kombination mit dem VisionArray MYCO Chip 2.0 verwendet werden. Die automatisierte Auswertung erfolgt mit einem VisionArray Analysis Package.

**1) Vorbereitende Schritte**

- Bestimmung der Anzahl an benötigten PCR-Reaktionen

**Reagenzien**

(1) MYCO PreCise Master Mix 2.0	15 µl
(2) DNA Probe	2.5-5 µl
(3) H <sub>2</sub> O	Ad 25 µl
<b>Gesamtvolumen</b>	<b>25 µl</b>

- Auftauen des MYCO PreCise Master Mix 2.0 (1)
- Aliquotieren des PreCise Master Mix (1) in DNA/DNase freie PCR Gefäße
- Pipettieren der DNA Probe (2) in den PreCise Master Mix (1)
- Hinzufügen von 10 µl DNA/Dnase-freies Wasser für die Negativkontrolle
- Überführen der Proben in einen vorgewärmten und kalibrierten Thermocycler

VisionArray MYCO PCR

**VisionArray®** Arrays for DNA analysis

**2) PCR**

- Das Amplifikationsprotokoll wurde für das Biometra TProfessional Thermocycler System etabliert

Dauer	Temperatur	Wdh.	Schritte
10 min	25 °C	1x	Uracil-DNA Glykosylase Inkubation
10 min	95 °C	1x	Aktivierung: HotStart <i>Taq</i> Polymerase Deaktivierung: Uracil-DNA Glycosylase
20 s	95 °C		Denaturierung
90 s	60 °C	35x	Primer-Bindung und Elongation
60 s	95 °C	1x	Denaturierung
∞	10 °C	1x	
Ramping-Zeit: Δ 5 °C/s			

Nach der PCR sollten die Produkte bei -16...-22 °C gelagert werden.

VisionArray MYCO PCR

Dies ist ein verkürztes und vereinfachtes Protokoll für den VisionArray MYCO PreCise Master Mix 2.0 und soll nicht die Bedienungsanleitung ersetzen!