

## VisionArray® Arrays for DNA analysis

Το VisionArray HPV PreCise Master Mix προορίζονται να χρησιμοποιηθούν για την ενίσχυση και βιοτινιλίωση συγκεκριμένων τμημάτων της περιοχής L1 των γονιδιωμάτων του ιού του ανθρώπινου θηλώματος (HPV) με PCR.

Για την διαδικασία ανίχνευσης το VisionArray Detection Kit πρέπει να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με το αντίστοιχο VisionArray HPV Chip. Η αυτόματη ανάλυση πρέπει να πραγματοποιηθεί με ένα VisionArray Analysis Package.

### 1) Προπαρασκευαστικά βήματα

- Προσδιορίστε την ποσότητα με βάση τον αριθμό των αιτούμενων προσδιορισμών PCR

#### Αντιδραστήρια

(1) HPV PreCise Master Mix	15 μl
(2) Δείγμα DNA	2.5-5 μl
(3) H <sub>2</sub> O	Ad 25 μl
<b>Συνολικός όγκος</b>	<b>25 μl</b>

- Μεταφέρετε τα συστατικά HPV PreCise Master Mix (1)
- Μεταφέρετε το PreCise κύριο μίγμα (1) σε ελεύθερα από DNA/Δνάσηφιαλίδια PCR
- Μεταφέρετε με την πιπέτα το δείγμα DNA (2) μέσα στο PreCise κύριο μίγμα (1)
- Για τον αρνητικό μάρτυρα προσθέστε 10 μl ελεύθερο από DNA/Δνάση
- Μεταφέρετε τα δείγματα στον προθερμασμένο και βαθμονομημένο θερμικό κυκλοποιητή

## VisionArray® Arrays for DNA analysis

### 2) PCR

- Το πρωτόκολλο ενίσχυσης έχει καθιερωθεί με χρήση του συστήματος θερμικού κυκλοποιητή Biometra TProfessional

Χρόνος	Θερμοκρασία	Επαναλήψεις	Βήμα
10 min	25 °C	1x	Επώαση σε Uracil-DNA-Γλυκοζυλάση
10 min	95 °C	1x	Ενεργοποίηση της HotStart Tag Πολυμεράσης Απενεργοποίηση σε Uracil-DNA-Γλυκοζυλάση
20 s	95 °C		Αναδιάταξη
30 s	55 °C	10x	Ανόπτηση
80 s	60 °C		Επιμήκυνση
20 s	95 °C		Αναδιάταξη
30 s	38 °C	35x	Ανόπτηση
80 s	60 °C		Επιμήκυνση
1 min	95 °C	1x	Αναδιάταξη
∞	8 °C	1x	

Χρόνος μεταβολής : Δ 5 °C/s

Όταν τελειώσει η PCR το φιαλίδιο της αντίδρασης πρέπει να φυλάσσεται στους -18...-22 °C

Το παρόν είναι ένα συνοπτικό πρωτόκολλο για το VisionArray HPV PreCise Master Mix και σε καμιά περίπτωση δεν αντικαθιστά τα επίσημα εσώκλειστα οδηγιών χρήσης !

## VisionArray® Arrays for DNA analysis

Το VisionArray HPV PreCise Master Mix, το VisionArray HPV Primer Kit 2.0, η VisionArray PreCise Taq DNA Polymerase και η VisionArray Uracil-DNA Glycosylase προορίζονται να χρησιμοποιηθούν για την ενίσχυση και βιοτινιλίωση συγκεκριμένων τμημάτων της περιοχής L1 των γονιδιωμάτων του ιού του ανθρώπινου θηλώματος (HPV) με PCR.

Για την διαδικασία ανίχνευσης το VisionArray Detection Kit πρέπει να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με το αντίστοιχο VisionArray HPV Chip. Η αυτόματη ανάλυση πρέπει να πραγματοποιηθεί με ένα VisionArray Analysis Package.

### 1) Προπαρασκευαστικά βήματα

Αντιδραστήρια (Τελική συγκέντρωση 1x)

HPV PreCise Master Mix

(1) HPV PreCise Master Mix	-	15 µl
(2) PCR Buffer	2.5 µl	-
(3) MgCl <sub>2</sub>	8 µl	-
(4) dNTP/dUTP Solution	1.0 µl	-
(5) Primer Mix 2.0	1.0 µl	-
(6) VisionArray Uracil-DNA Glycosylase	0.05 µl	-
(7) VisionArray PreCise Taq DNA Polymerase	0.3 µl	-
(8) Δείγμα DNA	2.5-5 µl	2.5-5 µl
(9) H <sub>2</sub> O	Ad 25 µl	Ad 25 µl
<b>Συνολικός όγκος</b>	<b>25 µl</b>	<b>25 µl</b>

- Μεταφέρετε τα συστατικά 3 & 4 σε πάγο
- Ετοιμάστε ένα κύριο μίγμα για τα αντιδραστήρια 1-6
- Αναμίξτε προσεκτικά και φυγοκεντρήστε για σύντομο χρονικό διάστημα
- Μεταφέρετε το κύριο μίγμα σε ελεύθερα από DNA/DNάση φιαλίδια PCR
- Μεταφέρετε με την πιπέτα το δείγμα DNA (7) μέσα στο κύριο μίγμα
- Για τον αρνητικό μάρτυρα προσθέστε 10 µl ελεύθερο από DNA/DNάση
- Μεταφέρετε τα δείγματα στον προθερμασμένο και βαθμονομημένο θερμικό κυκλοποιητή

VisionArray HPV PCR

## VisionArray® Arrays for DNA analysis

### 2) PCR

- Το πρωτόκολλο ενίσχυσης έχει καθιερωθεί με χρήση του συστήματος θερμικού κυκλοποιητή Biometra TProfessional

Χρόνος	Θερμοκρασία	Επαναλήψεις	Βήμα
10 min	25 °C	1x	Επώαση σε Uracil-DNA-Γλυκοζυλάση
10 min	95 °C	1x	Ενεργοποίηση της HotStart Taq Πολυμεράσης Απενεργοποίηση σε Uracil-DNA-Γλυκοζυλάση
20 s	95 °C		Αναδιάταξη
30 s	55 °C	10x	Ανόπτηση
80 s	60 °C		Επιμήκυνση
20 s	95 °C		Αναδιάταξη
30 s	38 °C	35x	Ανόπτηση
80 s	60 °C		Επιμήκυνση
1 min	95 °C	1x	Αναδιάταξη
∞	8 °C	1x	

Χρόνος μεταβολής : Δ 5 °C/s

- Όταν τελειώσει η PCR το φιαλίδιο της αντίδρασης πρέπει να φυλάσσεται στους -18...-22 °C

Το παρόν είναι ένα συνοπτικό πρωτόκολλο για το VisionArray HPV PreCise Master Mix και το VisionArray® HPV Primer Kit 2.0 με την χρήση του VisionArray® PreCise Taq DNA Polymerase και το VisionArray® Uracil-DNA Glycosylase και σε καμιά περίπτωση δεν αντικαθιστά τα επίσημα εσώκλειστα οδηγιών χρήσης !

VisionArray HPV PCR