

Link do produktu: <http://www.novazym.sklep.pl/hybridetect-2t-100-paskow-modyfikowane-startery-opcja-p-3679.html>



HybriDetect 2T, 100 pasków + modyfikowane startery (opcja)

Dostępność

Dostępność - 3 dni

Opis produktu

HybriDetect 2T

Uniwersalne paski immunochromatograficzne do detekcji produktu reakcji PCR, LAMP lub analizy białek i innych produktów znakowanych FITC, biotyną lub digoksygeniną.

Charakterystyka produktu:

- Analiza produktu reakcji w czasie 5 minut po jej zakończeniu.
- Czułość analityczna pasków jest równoważna z elektroforezą agarozową i późniejszym barwieniem DNA przy użyciu EtBr.
- czułość 5pg DNA (PCR).
- Idealne do zastosowania jako metoda detekcji produktu uzyskanego w takich technikach molekularnych jak LAMP, RPA, CPA, PCR.
- **Dostępne w zestawie ze znakowanymi starterami reakcji PCR, LAMP, CPA, RPA (dostępne znakowania digoksygeniną, biotyną, FITC)**

Przygotowanie próby do analizy:

UWAGA Wymagane jest wcześniejsze przygotowanie materiałów:

Przygotowanie roztworów (A i B). Każdy z roztworów musi zawierać w końcowym efekcie odpowiednio przygotowane i wyznakowany analit i detektor.

1) **Solution A:** konieczność znakowania produktu reakcji (np. starterów reakcji PCR, LAMP) przed detekcją

- **FITC** (izotiocyanian fluoresceiny)
- **Biotyna**

2) **Solution B:** Konieczność znakowania produktu reakcji przed detekcją

- **FITC** (izotiocyjanian fluoresceiny)
- **Digoksygenina**

3) Do testu należy zastosować 100 µL (materiału testowego lub przygotowanego zawierającego analit - solutions, A i B).

4) Zaczony do testu bufor (MGCB2) może zostać użyty jako dedykowany do przygotowania rozczenia, roztworów zawierających analit, detektor.

Przykład użycia: Do 20 µl materiału analizowanego należy dodać 80 µl roztworu dla badanego analitu, czas inkubacji 5 min.

UWAGA: Objętość roztworu specyficznego dla analitu i czas inkubacji powinien zostać dobrany indywidualnie na etapie przygotowania metody. Ogólna procedura przygotowania dla reakcji PCR została poniżej dokładnie opisana. Produkt reakcji PCR powinien zostać wyznakowany biotyną a specyficzna sonda powinna zostać wyznakowana FITC. Produkt stanowiący kontrolę wewnątrz reakcji należy wyznakować digoksygeniną, a specyficzna dla niego sonda należy wyznakować FITC. W celu uzyskania produktu reakcji można użyć następujących technik molekularnych - RPA, CPA, LAMP, PCR.

Opis metody:

HybriDetect 2T jest gotowym do użycia uniwersalnym paskiem bazującym na technice immunochromatograficznej i przeciwciałach znakowanych koloidalnym złotem. Pasek został wytworzony do bardzo szybkiej jakościowej i ilościowej oceny produktów reakcji. Pozwala na ocenę takich analitów jak białka, przeciwciała lub produktów amplifikacji genów. Umożliwia wprowadzenie kontroli reakcji.

W ramach przygotowania do detekcji produktu użytkownik powinien zoptymalizować dwa systemy zawierające specyficzne:

Solution A: Zawierający pierwszy detector (przeciwciało, antigen, specyficzna sonda) znakowane FITC i drugi (przeciwciało, antygen, specyficzna sonda) znakowany biotyną

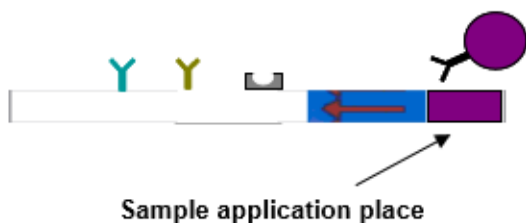
Solution B: Zawierający (przeciwciało, antigen, specyficzna sonda) znakowany FITC i drugi (przeciwciało starter) znakowane digoksygeniną.

Próbka podlegająca ocenie należy zmieszać z roztworem specyficznym dla analitu następnie użyć paska do detekcji analizowanego produktu.

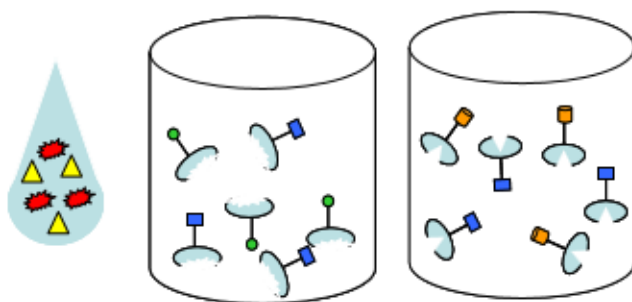
Kompleks Analit (A) - wyznakowany FITC i biotyną wiążą się jako pierwszy w strefie przeznaczonej na nakładanie próby na pasku z przeciwciałami znakowanymi koloidalnym złotem dla próby. Drugi kompleks podobnie jak pierwszy wiążą się również z przeciwciałami anty-FITC, następnie oba kompleksy A i B dyfundują w górę membrany paska poprzez oddziaływanie kapilarne. Człeczki złota zawierające specyficzny analit zatrzymają się w miejscu na pasku odpowiadającym za pojawianie się specyficznego produktu i kontroli reakcji (test band A- analit A, test band B- analit B). Nie związane człeczki koloidalnego złota zostaną immobilizowane w strefie przeciwciał specyficznych gatunkowo w celu uzyskania produktu kontroli paska do detekcji.

Zasada dzia?ania testu:

1) Ready-to-use (analyte-independent) dipstick



2) Addition of sample, resp. analyte A and B-specific solutions

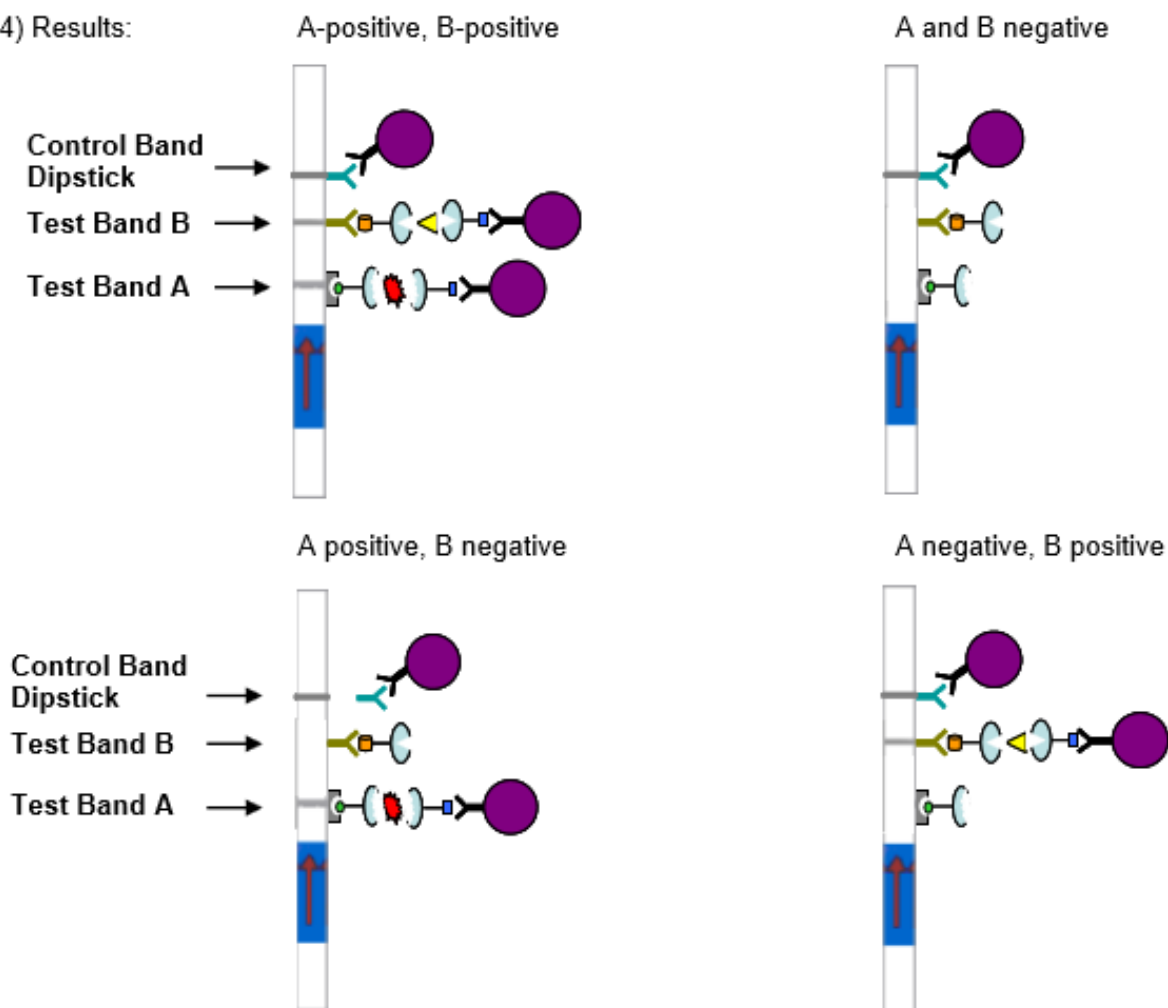


3) Incubation

Symbols:

	FITC
	Biotin
	Digoxigenine
	Goldparticle
	anti-FITC Antibody
	Analyte A Detector 1 + 2
	Analyte A (Protein, antibody, genetic amplicon)
	Analyte B Detector 1 + 2
	Analyte B (Protein, antibody, genetic amplicon)
	Biotin-Ligand
	anti-Digoxigenine Antibody
	anti-rabbit Antibody

4) Results:



Strefa kontroli paska - control band dipstick

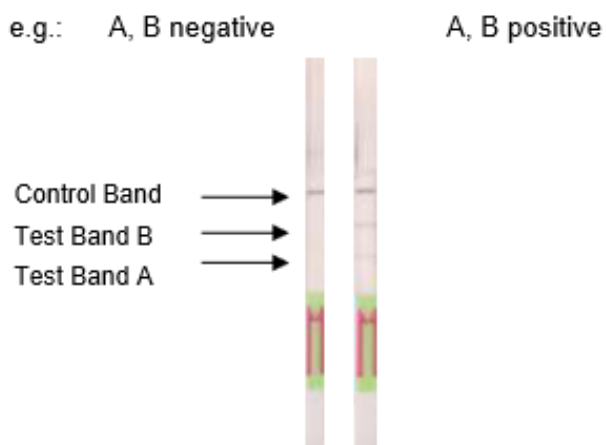
UWAGA! W każdym przypadku w tej strefie powinien pojawić się kontrolny pasek!

Pojawianie się widocznego paska kontroli świadczy o prawidłowym działaniu paska, nie należy w żadnym wypadku mylić go z paskiem kontroli reakcji wykrywającej specyficzny analit.

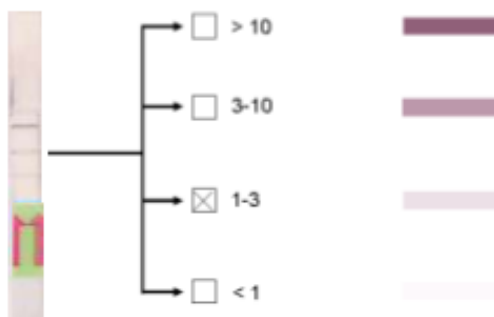
Interpretacja wyników otrzymanych przy użyciu paska:

Możliwe jest pojawianie się 3 typów wyników:

1) Qualitative by visual interpretation



2) Semi-quantitative, e.g. by interpretation cards

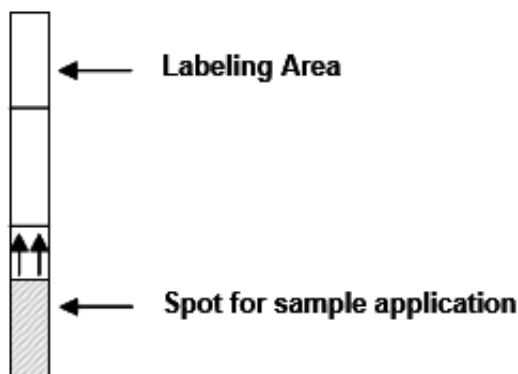


3) Quantitative interpretation with the Milenia® POC Scan Reader and appropriate software



Analiza produktów reakcji PCR

1W pierwszym etapie nale?y dok?adnie opisa? pasek w zaznaczonym miejscu.



1. Dla każdej analizowanej próbki odpipetować **100 µL HybriDetect Assay Buffer** (lub specjalnie przygotowany dla próby) do dołka mikropłytki.
2. Nanieść 5-10 µl produktu reakcji po hybrydyzacji na przestrzeń paska przeznaczoną dla aplikacji próby.
3. Alternatywnie można pobrać 5-10 µl produktu po hybrydyzacji bezpośrednio do roztworu reakcyjnego do dołka/probówki.
4. Umieścić pasek czystej aplikacji w roztworze następnie inkubować 5-15 minut.
5. Zinterpretować wynik

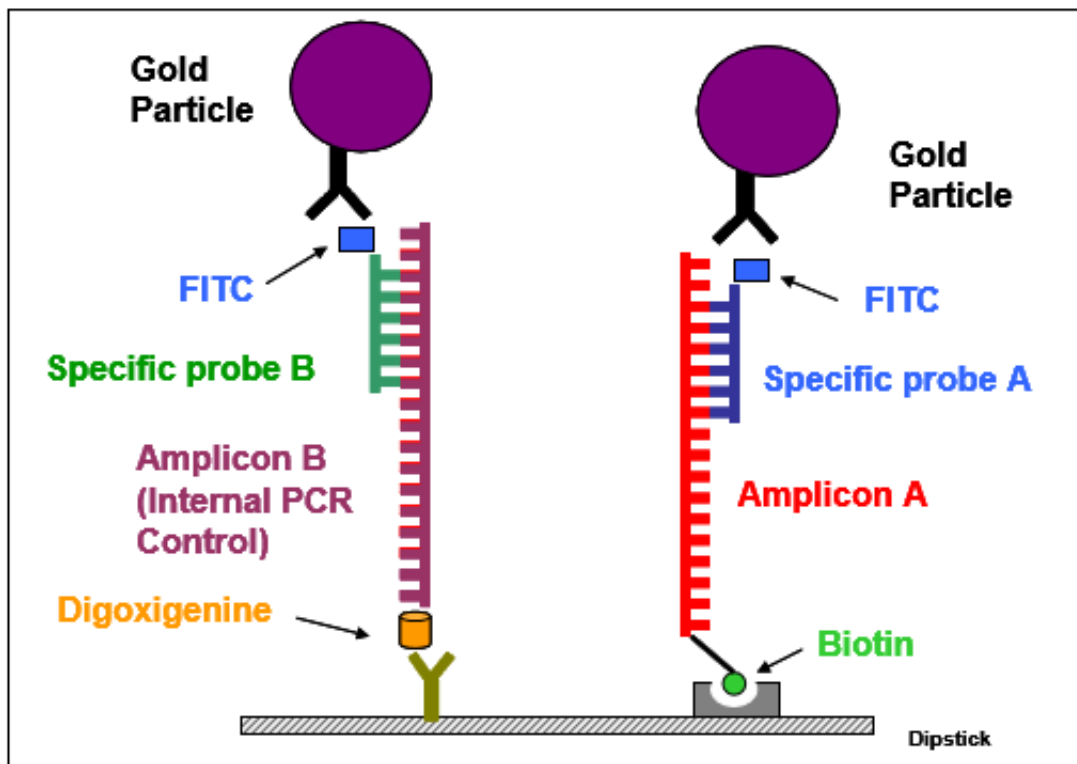
UWAGA:

- Czułość metody detekcji jest wprost proporcjonalna do objętości analizowanej próbki PCR
- Objętość roztworu analitu i czas inkubacji podlegają indywidualnej optymalizacji w metodzie detekcji.

Interpretacja wyniku reakcji PCR

Zastosowanie kontroli wewnętrznej reakcji PCR:

amplicon A – znakowanie biotyną jest przeznaczony do detekcji właściwego produktu reakcji,
amplicon B znakowany digoksygeniną jest przeznaczony jako kontrola reakcji PCR.



Linia testowa A	Linia testowa B	Kontrola paska	Interpretacja
widoczna	widoczna	widoczna	- Linka kontroli widoczna test wykonano prawidłowo - amplicon A jest wykryty (pozytywny wynik) - kontrola wewnętrzna reakcji PCR jest pozytywna (amplicon B)
niewidoczna	widoczna	widoczna	- Linka kontroli widoczna test wykonano prawidłowo - amplicon A nie został wykryty (test jest negatywny) - kontrola wewnętrzna reakcji PCR jest pozytywna (amplicon B)
widoczna	niewidoczna	niewidoczna	wynik jest nieważny ponieważ linia kontroli paska nie pojawiła się?
niewidoczna	widoczna		
niewidoczna	niewidoczna		
niewidoczna	niewidoczna	niewidoczna	- test działa poprawnie linia kontroli testu pojawiła się? - reakcja PCR nie została wykonana prawidłowo (amplicon B nie został wykryty)
widoczna			

Trouble Shooting "PCR"

Problem	Możliwy powód	Zalecenia
Niewidoczna linia kontroli paska	a) niedostateczna amplifikacja DNA	Przygotować nowe roztwory

	b) przekroczona data ważności c) złe warunki przechowywania pasków	
Negatywny wynik detekcji za pomocą paska a widoczny przebieg DNA na pasku	a) niespecyficzny produkt reakcji b) brak właściwej hybrydyzacji	Sprawdź produkt PCR w technice Southern blotting lub poprzez sekwencjonowanie Sprawdź warunki hybrydyzacji.
Olej mineralny	a) olej mineralny wpływa na detekcję za pomocą pasków b) reakcja może ulec inhibicji	Pobrać uwaźnie produkt PCR wyodrębnić z dna próbówki

Czułość oznaczenia reakcji "PCR"

Czułość analityczna pasków jest równoważna z elektroforezą agarozową i późniejszym barwieniem DNA przy użyciu EtBr. Niezależnie od wielkości produktu i ilości cykli PCR czułość metody wynosi **5pg DNA**.

- Przechowywać w temp. 2 - 8° C w oryginalnym opakowaniu.
- Przed zastosowaniem doprowadzić do temp. (18 - 28° C).
- Należy przed zastosowaniem sprawdzić datę przydatności do użycia.
- Chronić przed wilgocią.
- Nie należy dotykać, znakowa strefa paska nie pokrytej folią zabezpieczającą (labeling area).
- The disposal of waste materials must be carried out according to current local regulations.
- Nie należy dopuścić do kontaktu buforów ze skórą i rękawicami.

Materiały w zestawie:

Komponent	Cat.-No.	zawartość	Przygotowanie	Przechowywanie	Data ważności
HybriDetect 2T paski: pokryte biotyn-ligand i przeciwciałami II rz. (goat) digoxigenine; poliklonalne (królicze) anti- FITC przeciwciała znakowane koloidalnym złotem	MGDS2	2 x 50 testu (niebieska laminacja)	Gotowy do zastosowania	2 - 8°; chronić przed wilgocią!	Jak na opakowaniu

HybriDetect 2T Assay Buffer: TBS	MGCB2	2 probówki 10 mL (yellow cap)	Ready-to use	2 - 8°C	Jak na opakowaniu
--	-------	-------------------------------------	--------------	---------	----------------------

Wymagane Materiały:

- Pipety
- Kołcówki do pipet z filtrem

Płyta 96-well microtiter plate

Literatura

Kiatpathomchai W, et al, J Virol Methods (2008); 153: 214-217
Puthawibool T, et al, J Virol Methods (2009); 156 (1-2): 27-31
Jaroenram W, et al, Mol Cell Probes (2009); 23 (2): 65-70
Nimitphak T, et al, Mol Cell Probes (2009); 24 (1): 1-5
Kikuchi T, et al, Nematology (2009); 99 (12): 1365-1369
Piepenburg O, et al, PloS Biology 2006, Volume 4, Issue 7, e204

Producent: Milenia Biotec

Dystrybutor: NOVAZYM POLSKA s.c.

Poznan Science &Technology Park

Rubież 46H Street,

61-612 Poznań,

POLAND

Tel + 48 61 610 39 10

Fax + 48 61 610 39 11

email: info@novazym.pl