

## VisionArray® Arrays for DNA analysis

Der VisionArray HPV PreCise Master Mix, das VisionArray HPV Primer Kit 2.0, die VisionArray PreCise Taq DNA Polymerase und die VisionArray Uracil-DNA Glykosylase werden verwendet um spezifische Bereiche der L1 Region des HPV Genoms mittels PCR zu amplifizieren. Für die Detektion sollte das VisionArray Detection Kit in Kombination mit dem VisionArray HPV Chip verwendet werden. Die automatisierte Auswertung erfolgt mit dem VisionArray Analysis Package.

### 1) Vorbereitende Schritte

- Bestimmung der Anzahl an benötigten PCR-Reaktionen (n)

Reagenzien (finale Konz. n=1)		HPV PreCise Master Mix (15 µl)
(1) 10x PCR Buffer	2.5 µl (1x)	Enthalten
(2) MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	8 µl (8 mM)	Enthalten
(3) dNTP/dUTP Solution	1.0 µl	Enthalten
(4) Primer Mix 2.0	1.0 µl (n/a)	Enthalten
(5) VisionArray Uracil-DNA Glykosylase	0.05 µl (0.5 U)	Enthalten
(6) VisionArray PreCise Taq DNA Polymerase	0.3 µl (1.5 U)	Enthalten
(7) DNA Probe	2.5-5 µl	2.5-5 µl
(8) H <sub>2</sub> O	Ad 25 µl	Ad 25 µl
<b>Gesamtvolumen</b>	<b>25 µl</b>	<b>25 µl</b>

- Auftauen der Komponenten 3 & 4 auf Eis
- Herstellen eines Mastermix der Reagenzien 1-6
- Vorsichtig mischen und abzentrifugieren
- Aliquotieren des Mastermix in DNA/DNase freie PCR Gefäße
- Pipettieren der DNA Probe (7) in den Mastermix
- Hinzufügen von 10 µl DNA/DNase freies Wasser für die Negativkontrolle
- Überführen der Proben in einen vorgewärmten und kalibrierten Thermocycler

## VisionArray® Arrays for DNA analysis

### 2) PCR

- Das Amplifikationsprotokoll wurde für das Biometra TProfessional Thermocycler System etabliert

Zeit	Temperatur	Wdh.	Schritte
10 min	25 °C	1x	Uracil-DNA Glykosylase Inkubation
10 min	95 °C	1x	Aktivierung: HotStart Taq Polymerase Deaktivierung: Uracil-DNA Glykosylase
20 s	95 °C		Denaturierung
30 s	55 °C	10x	Primer-Bindung
80 s	60 °C		Synthese
20 s	95 °C		Denaturierung
30 s	38 °C	35x	Primer-Bindung
80 s	60 °C		Synthese
1 min	95 °C	1x	Denaturierung
∞	8 °C	1x	

Ramping-Zeit: Δ 5 °C/s

- Nach der PCR sollten die Produkte bei -18...-22 °C gelagert werden

Alternativ kann der VisionArray HPV PreCise Master Mix verwendet werden

Dies ist ein verkürztes und vereinfachtes Protokoll für den VisionArray HPV PreCise Master Mix, das VisionArray® HPV Primer Kit 2.0 unter Verwendung der VisionArray® PreCise Taq DNA Polymerase und der VisionArray® Uracil-DNA Glykosylase und soll nicht die Bedienungsanleitung ersetzen!

## VisionArray® Arrays for DNA analysis

Der VisionArray HPV PreCise Master Mix, das VisionArray HPV Primer Kit 2.0, die VisionArray PreCise Taq DNA Polymerase und die VisionArray Uracil-DNA Glykosylase werden verwendet um spezifische Bereiche der L1 Region des HPV Genoms mittels PCR zu amplifizieren. Für die Detektion sollte das VisionArray Detection Kit in Kombination mit dem VisionArray HPV Chip verwendet werden. Die automatisierte Auswertung erfolgt mit dem VisionArray Analysis Package.

### 1) Vorbereitende Schritte

- Bestimmung der Anzahl an benötigten PCR-Reaktionen (n)

Reagenzien (finale Konz. n=1)		HPV PreCise Master Mix (15 µl)
(1) 10x PCR Buffer	2.5 µl (1x)	Enthalten
(2) MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	8 µl (8 mM)	Enthalten
(3) dNTP/dUTP Solution	1.0 µl	Enthalten
(4) Primer Mix 2.0	1.0 µl (n/a)	Enthalten
(5) VisionArray Uracil-DNA Glykosylase	0.05 µl (0.5 U)	Enthalten
(6) VisionArray PreCise Taq DNA Polymerase	0.3 µl (1.5 U)	Enthalten
(7) DNA Probe	2.5-5 µl	2.5-5 µl
(8) H <sub>2</sub> O	Ad 25 µl	Ad 25 µl
<b>Gesamtvolumen</b>	<b>25 µl</b>	<b>25 µl</b>

- Auftauen der Komponenten 3 & 4 auf Eis
- Herstellen eines Mastermix der Reagenzien 1-6
- Vorsichtig mischen und abzentrifugieren
- Aliquotieren des Mastermix in DNA/DNase freie PCR Gefäße
- Pipettieren der DNA Probe (7) in den Mastermix
- Hinzufügen von 10 µl DNA/DNase freies Wasser für die Negativkontrolle
- Überführen der Proben in einen vorgewärmten und kalibrierten Thermocycler

## VisionArray® Arrays for DNA analysis

### 2) PCR

- Das Amplifikationsprotokoll wurde für das Biometra TProfessional Thermocycler System etabliert

Zeit	Temperatur	Wdh.	Schritte
10 min	25 °C	1x	Uracil-DNA Glykosylase Inkubation
10 min	95 °C	1x	Aktivierung: HotStart Taq Polymerase Deaktivierung: Uracil-DNA Glykosylase
20 s	95 °C		Denaturierung
30 s	55 °C	10x	Primer-Bindung
80 s	60 °C		Synthese
20 s	95 °C		Denaturierung
30 s	38 °C	35x	Primer-Bindung
80 s	60 °C		Synthese
1 min	95 °C	1x	Denaturierung
∞	8 °C	1x	

Ramping-Zeit: Δ 5 °C/s

- Nach der PCR sollten die Produkte bei -18...-22 °C gelagert werden

Alternativ kann der VisionArray HPV PreCise Master Mix verwendet werden

Dies ist ein verkürztes und vereinfachtes Protokoll für den VisionArray HPV PreCise Master Mix, das VisionArray® HPV Primer Kit 2.0 unter Verwendung der VisionArray® PreCise Taq DNA Polymerase und der VisionArray® Uracil-DNA Glykosylase und soll nicht die Bedienungsanleitung ersetzen!