

PCR

RedTaq Superpak DNA polymerase D6063 Sigma

200 µl-es, steril eppendorf csövekbe az alábbiakat mérjük össze, steril hegyeket használjunk, a dNTP-ből és a pufferből csinálhatunk egy mixet és azt lehet szétosztani. Dolgozzunk jégen, az enzimet utoljára vegyük ki a hűtőből, és azonnal tegyük vissza használat után. (érékeny, könnyen tönkre mehet)

- steril dH₂O
- cDNA templát össz: 18,75 µl
- 2,5 µl 10x PCR Buffer
- 0,5 µl dNTP mix
- 1-1 µl primer (100 mM-ost 10x re hígítani)
- 1,25 µl RedTaq enzim

A PCR készüléket kapcsoljuk be, majd válaszuk ki a megfelelő programot és azt indítsuk el. A csöveket viszont addig ne tegyük be, amíg a tető fel nem melegedett. Ha kiírja, hogy elkezdte a programot, abortáljuk, tegyük be a csöveket (lehetőleg középtáj) majd folytassuk a programot. A Hold-hőmérsékletet csak 10°C-ra szabad állítani, és ha a program lejárt, vegyük ki mihamarabb a mintáinkat.

A mintákat -20°C-on őrizzük, amíg meg nem futtatjuk