

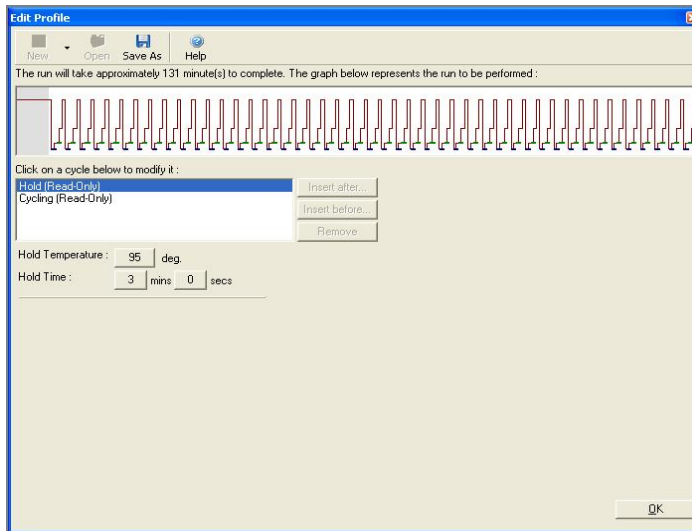
Programmierung und Auswertung des Rotorgene 6000 für die Verwendung von Minerva Biolabs real-time PCR Kits

1. Programmierung

Programmschritt 1: **HOLD**

Hold Temperature: 95 °C

Hold Time: 3 min 0 sec



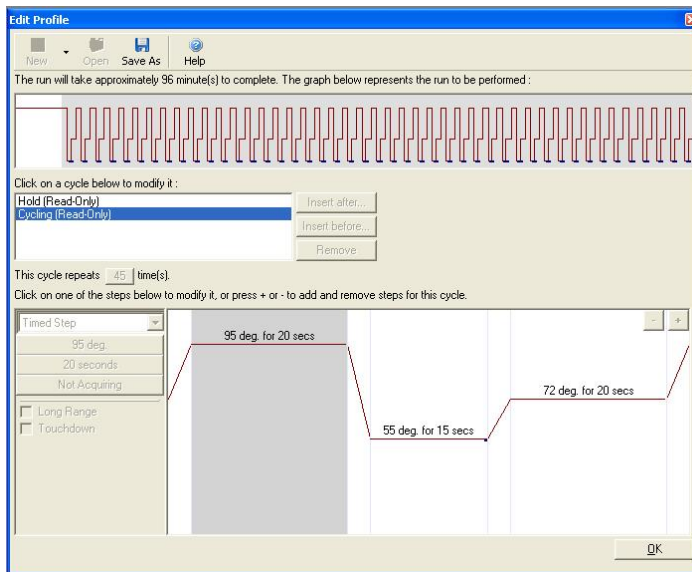
Programmschritt 2: **CYCLING**

Step 1: 95°C for 20 sec

Step 2: 55°C for 15 sec → **acquiring to Cycling A (Green, Orange)**

Step 3: 72°C for 20 sec

45 Zyklen



Gain Einstellungen:

Green < 5

Orange 9

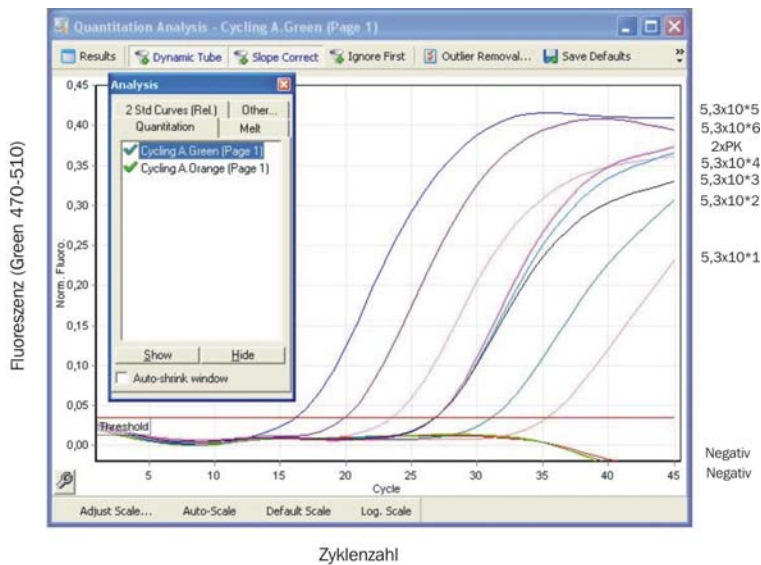
Bitte achten Sie vor dem Start des Rotorgene 6000 auf die korrekte Filterauswahl. Für das Target ist der Filter FAM (Green 470-510) und für das Interne Kontroll-Target ist der Filter ROX (Orange 585-610) auszuwählen.

2. Auswertung und Interpretation der Testergebnisse

- die Quantifizierung der Target-DNA erfolgt im Fluoreszenzkanal für das FAM-Signal (Green)
- die Amplifikation der Internen Kontroll-DNA wird im Fluoreszenzkanal für ROX dargestellt (Orange)

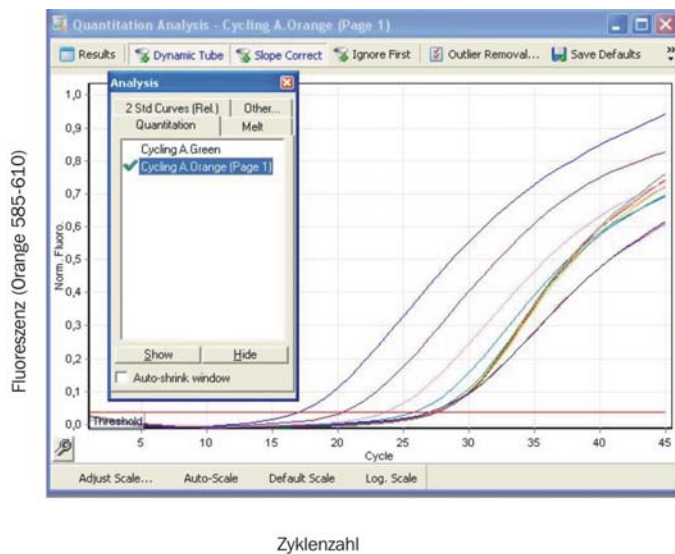
Die folgenden Amplifikationskurven wurden bei der Durchführung des Testsystems mit einer Verdünnungsreihe auf dem Rotorgene 6000 erhalten. Es werden die Fluoreszenzwerte gegen die Zyklenanzahl aufgetragen. Gleichzeitig wurde die Amplifikation der Internen Kontrolle im ROX-Kanal (Orange 558-610) verfolgt.

Amplifikationskurven im FAM Kanal (Target) „Green 470-510“



Amplifizierung der Verdünnungsreihe mit ca. $5,3 \times 10^5$, $5,3 \times 10^4$, $5,3 \times 10^3$, $5,3 \times 10^2$ und 53 Genomäquivalenten eines Quantifizierungsstandards je PCR Ansatz.

Amplifikationskurven im ROX Kanal (Interne Kontrolle) „Orange 585-610“



Amplifizierung der Internen Kontroll-DNA in Abhängigkeit einer Verdünnungsreihe mit ca. $5,3 \times 10^5$, $5,3 \times 10^4$, $5,3 \times 10^3$, $5,3 \times 10^2$ und 53 Genomäquivalenten eines Quantifizierungsstandards je PCR Ansatz.