

## PROTOKOL Real-time RT-PCR

EKSPERIMENT	TBEV				Broj naloga:
	Stock volume	H2O	Final volume	Molarity	Ispitivanje izvršio
Primer forward: TBEE-F6	20 µl	80 µl	100 µl	20 µM	
Primer reverse: TBEE-R2	20 µl	80 µl	100 µl	20 µM	
Proba: TBEE-P4	10 µl	90 µl	100 µl	10 µM	
					Datum

Real-time RT-PCR mix	Radna koncentracija	Finalna koncentracija	Kolicina po jednom uzorku	Ukupno
dd H <sub>2</sub> O	/	/	6,6µl	
RNA Ultrasense reaction mix	5 x	1 x	4 µl	
Primer	20 µM	1 µM	1 µl	
Primer	20 µM	1 µM	1 µl	
Probe	10 µM	500 nM	1 µl (0,5)	
ROX reference dye	50 x	1 x	0,4 µl	
RNA Ultrasense enzyme mix			1 µl	
Celokupni volumen miksa			15 µl	
Izolovana RNA uzorka			5 µl	
<b>Celokupni volumen reakcije</b>			20 µl	

### PROGRAM TaqMan® TBEV

etape	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
temperatura	50°C	95°C	95°C	60°C						
vreme	15:00	2:00	0:15	0:40						
broj ciklusa	1	1	50 x							