

PROTOKOL Real-time RT-PCR

EKSPERIMENT	WNV				Broj naloga:
	Stock volume	H2O	Final volume	Molarity	Ispitivanje izvršio
Primer forward: WNproC-F 10	20 µl	80 µl	100 µl	20 µM	
Primer reverse: WNproC-R 153	20 µl	80 µl	100 µl	20 µM	
Proba: WNproC-probe	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 ₂ O	/	/	6,6µl	
RNA Ultrasense reaction mix	5 x	1 x	4 µl	
Primer WNproC-F 10	20 µM	1 µM	1 µl	
Primer WNproC-R 153	20 µM	1 µM	1 µl	
Probe WNproC-probe	10 µM	500 nM	1 µl	
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	
Celokupni volumen reakcije			20 µl	

PROGRAM TaqMan® WNV

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