

## STR Multiplex OMident11 Kit

(katalogové číslo STR004)

### Popis produktu

Produktová řada STR Multiplex kit je určena na rutinní provádění STR analýz u rozličných druhů sladkovodních ryb v Evropě. STR Multiplex OMident11 Kit je určen výhradně pro genetické studie pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*). Patří ke kitům s možností generování dat koordinovaným a standardizovaným způsobem. Tzn., že hodnoty alel lze kalibrovat pomocí kalibračních standardů, které jsou přiloženy v soupravě. To pak umožňuje spolehlivější porovnávání studií z různých laboratoří a v rozličném čase.

Kit je navržen ve dvou multiplexním US-EU designu s lyofilizovanými primerovými páry ve standardní škále 10 - 25 nmol. STR panel je postaven na 11 lokusech a využívá standardní pěti barevnou sadu DS-33 (Tab. 1). Systém předpokládá min. 10 - 50 ng templátu DNA. Spolehlivá interpretace je založena na designu nepřekrývajících se alelických rozmezí lokusů a na krátkých ampliconech <345 bp zvyšující pravděpodobnost obdržení celého profilu i z degradovaných vzorků. Kit je kompatibilní s genetickými analyzátoři Applied Biosystems.

Tab. 1. Popis multiplexního designu kitu STR Multiplex OMident11

Multiplex	Lokus	Škála (nmol)	T <sub>a</sub> (°C)	ABI značení	STR motiv	Rozmezí alel (bp)	Citace†
M1	OMY1	25	55	6-FAM	di-	92-128	OMident11
M1	OMY2	25	55	6-FAM	tri-	255-279	OMident11
M1	OMY3	10	55	VIC	tri-	105-141	OMident11
M1	OMY4	10	55	NED	di-	150-196	OMident11
M1	OMY5	10	55	PET	di-	157-201	OMident11
M2	OMY7	10	55	PET	tetra-	166-206	OMident11
M2	OMY8	10	55	VIC	di-	114-180	OMident11
M2	OMY9	10	55	NED	tetra-	84-196	OMident11
M2	OMY10	25	55	6-FAM	tetra-	205-321	OMident11
M2	OMY11	25	55	6-FAM	tetra-	96-120	OMident11
M2	OMY12	10	55	PET	di-	258-280	OMident11

†Pro citování v článku: STR Multiplex OMident11 Kit (kat. č. STR004), Institute of Vertebrate Biology, Brno, Czech Republic

## Příprava zásobních roztoků

Zkumavky před následnými kroky třeba stočit na centrifuze. Pro získání koncentrace 100 pmol/μl (0,1mM roztok) jednotlivé lyofilizované primery v 10 nebo 25 nmol škále rozpustit v konkrétním objemu PCR H<sub>2</sub>O (μl) dle vzorce: Cont (nmol) x 10. Konkrétní Cont hodnoty jsou uvedeny na zkumavkách primerů. Dále ředit každý pár primerů na 10 μM zásobní roztok: 10 μl F + 10 μl R + 80 μl PCR H<sub>2</sub>O. Poté následuje míchání multiplexu M1 a M2 dle protokolu níže.

## Protokol

Reakční mix připravovat do objemu 7 μl, viz Tab. 2.

Tab. 2. Reakční setup pro multiplexní PCR

Set M1	V (7 μl)		Set M2	V (7 μl)
2x QMM*	3,5	<b>STR</b>	2x QMM*	3,5
PCR H <sub>2</sub> O	1,94†	<b>O</b>	PCR H <sub>2</sub> O	1,695†
OMY1	0,105	<b>M</b>	OMY7	0,14
OMY2	0,105	<b>i</b>	OMY8	0,14
OMY3	0,105	<b>d</b>	OMY9	0,14
OMY4	0,105	<b>e</b>	OMY10	0,105
OMY5	0,14	<b>n</b>	OMY11	0,14
		<b>t</b>	OMY12	0,14
DNA	1†	<b>11</b>	DNA	1†

\*2x Qiagen Multiplex PCR Master Mix; †Regulace dle koncentrace

## PCR podmínky

Postupovat dle doporučení výrobce kitu Qiagen Multiplex PCR pro amplifikaci mikrosatelitů a krátkých amplikonů (počet cyklů 27) s využitím multiplexní PCR a dle Tab. 1 (Ta - annealing).

## Kalibrační standardy

Na vyžádání mohou být k soupravě přiloženy DNA izoláty kalibračních standardů pro porovnávání studií připravovaných v rozličném čase. Objem kalibrátorů je standardně 15 μl. Multiplexní PCR je připravována dle stejného protokolu viz výše.

## Kit neobsahuje

Před započítáním testování třeba zakoupit Qiagen Multiplex PCR Kit (Qiagen, kat. č. 206143 nebo 206145) a velikostní standard GeneScan<sup>TM</sup>- 600 LIZ<sup>®</sup> (Life Technologies, kat. č. 4408399; rozsah 20-600 bp).

## Podmínky skladování

Uchovávat při T = -20°C. Fluorescenční primery jsou fotosenzitivní, proto je třeba minimalizovat jejich světelnou expozici. Doporučeno zásobní roztok rozpipetovat do více alikvótů.

*Pozn. Vaše zpětná vazba je pro nás cenná, děkujeme za neustálé vylepšování designu soupravy.*

*Vývoj soupravy byl prováděn za podpory projektu QK21010030 podporovaného MZe ČR. Poslední revize 11/2024.*