

I. Eszközök:

- Fluoriméter (Qubit) + tápkábel !!
- Mikropipetta: P1000, P100 vagy P200, P10

II. Anyagok:

- Min. 15 (12 csoport diák esetén) 0.5ml vékonyfalú PCR cső (amit a Qubit kalibrációkor használtunk)
- Pipettahegyek: 1 doboz 1000 μ l, 1 doboz 200 μ l és 1 doboz 10 μ l
- Assay puffer és reagens (ne feledje, sötétben kell tárolni!!)
- Hűtődoboz szállításhoz jéggel
- Hűtőtartó 0,5 ml-es csövekhez (előre lefagyasztva)
- Hűtőtartó 1,5 ml-es csövekhez (előre lefagyasztva)

III. Előkészítés (0. nap)

Becsült idő: 15 perc

1. Készletfelmérés és reagens előkészítés

- **Cső kiválasztás:** Gyűjtsön össze tizenöt **0.5 ml thin-walled tubes** kifejezetten Qubithez tervezett
- **Master Mix tartály:** Készítsen elő egy **15 ml conical tube** és tekerje be teljesen alufóliával a fényérzékeny festék védelmére.

2. A munkamoldat (Master Mix) előkészítése

- **Arány:** 199 μ l of **Qubit Buffer** to 1 μ l of **Qubit Reagent (Dye)**.
- **Total for 15 Samples (13 groups+2 standards):**
 - o Pipettázzon **2,985 μ l** Qubit puffert a fóliába csomagolt 15 ml-es csőbe.
 - o Adjon hozzá **15 μ l** Qubit reagenst (festéket).
- **Tárolás:** Store at **4°C** vagy fagyassza le.
- **Fontos megjegyzés:** A reagenseknek **room temperature** előtt "Day of Action" szobahőmérsékleten kell lenniük, hogy a festék és a DNS közötti kémiai kötés stabil legyen.
- +1

VI. Órai munka (1. nap)

Becsült idő: 12 perc (egymás után)

1. Beállítás és kalibrálás

- **Jelölés:** Jelölje meg a csöveket **S1** (1. standard), **S2** (2. standard), és **G1–G13** (Csoportok).
- **1. standard:** Adjon hozzá 190 μ l Working Solution and **10 μ l of Standard #1**.
- **2. standard:** Adjon hozzá 190 μ l Working Solution and **10 μ l of Standard #2**.
- **Lépés:** Vortexelje 2–3 másodpercig, majd hagyja állni 2 percig a stabilizálódáshoz.

2. Hallgatói mintaelőkészítés

- **Alikvotálás:** Pipetázzon **190 μ l** of Working Solution into each group tube (**G1–G13**).
- **Betöltés:** As each group finishes their **Step 11 (Elution)** , they bring you their tube.
- **DNA Adjon hozzáition:** Use a **clean P10 tip** to add **10 μ l** of their purified DNA into your assay tube.
- **Inkubálás:** Röviden vortexelje, majd várjon **2 minutes** hogy a festék interkalálódjon (kötődjön) a DNS-szálakba.