

Reference Gene Panel Human

Almacenar a 4°C (\leq 1mes); a -20°C ($>$ 1 mes)

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

En los ensayos de expresión génica utilizando PCR cuantitativas las diferencias entre las muestras debidas a pérdidas de material, a inhibición de PCR, o a variaciones en el rendimiento del proceso de RT deben de tenerse en cuenta. Sin embargo, no existe ningún gen de control universal de expresión constante, que sea independiente de las condiciones del experimento y de la muestra analizada¹.

En colaboración con el prestigioso TATAA Biocenter, hemos incluido en nuestra línea de productos un panel de control de expresión génica humana. Este kit consiste en doce ensayos validados de qPCR, para los genes más comunes utilizados en ensayos de expresión génica.

Gen	Nombre Completo
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
TUBB	Tubulin, beta polypeptide
PPIA	Cyclophilin A
ACTB	Actin, beta
YWHAZ	Tyrosine 3/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, zeta polypeptide
RRN18S	18S rRNA
B2M	Beta-2-microglobulin
UBC	Ubiquitin C
TBP	TATAA-box binding protein
RPLP	60S acidic ribosomal protein P0
GUSB	Beta-glucuronidase
HPRT1	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase

El programa GeneNorm de Excel macro (de descarga gratuita en <http://medgen.ugent.be/~jvdesomp/genorm/>) es de gran utilidad a la hora de elegir los genes de control más adecuados a cada muestra y así normalizar los resultados².

¹ Vandesompele J. et al (2002) Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes *Genome Biology* 3(7) 0034.1 - 0034.11

² Andersen C.L. et al (2004) Normalization of Real-Time Quantitative Reverse Transcription-PCR Data: A Model-Based Variance Estimation Approach to Identify Genes Suited for Normalization, Applied to Bladder and Colon Cancer Data Sets *Cancer Research* 64, 5245-5250

El kit permite realizar 100 reacciones con cada uno de los doce genes. Los primers incluidos en el Kit fueron seleccionados para que amplifiquen dentro de los límites del exón y en base a evitar la formación de dímeros del primer. Para normalizar un ensayo, se recomienda utilizar al menos dos genes del Panel de Control Humano³. El kit ha sido validado para su uso conjunto con QUANTIMIX EASY KIT.

MATERIALES INCLUIDOS

a) Paneles con genes de referencia

- Control positivo de ADN
- 12 sets de primers (100 rxns)
- GenEx Standard software, licencia para 1 año

b) Genes de referencia individuales

- 1 set de primers (500 rxns)

INSTRUCCIONES DE USO

El volumen final de la reacción es de 20 µl. Distribuya 10 µl de QUANTIMIX EASY MASTER MIX en cada vial de amplificación. Añada 1 µl del set de primers elegido y 50 -100 ng de ADN problema a cada vial de amplificación. Si es necesario complete el volumen final de reacción con agua estéril bidestilada. En caso de utilizarse volúmenes mayores de los indicados mantenga siempre las proporciones entre los componentes.

Para la detección y cuantificación del ADN control, cree en su termociclador en Tiempo Real el siguiente programa: desnaturalización 95°C 20seg; alineación 60 °C 20seg; extensión 72 °C 20seg. Después de amplificar se recomienda realizar una curva de disociación de 65°C a 95°C. Estos programas pueden variar según el equipo utilizado.

Este kit ha sido fabricado por TATAA Biocenter y es distribuido por BIOTOOLS B&M Labs, S.A. Para más información de este producto, puede descargarse el manual del fabricante en:

www.tataa.com/files/webshop/tataa_manual_human_2.0.pdf

³ Szabo A. et al (2004) Statistical modelling for selecting housekeeper genes *Genome Biology* 5:R5