



---

INSTITUT FÜR ANGEWANDTE LABORANALYSEN GMBH

## QuickGEN First-Beer PCR Kit

Real-time PCR Kit zum Nachweis von  
*Lactobacillus spp.* und *Pediococcus spp.*

real-time PCR Kit for detection of  
*Lactobacillus spp.* and *Pediococcus spp.*

**Art.Nr. / Order No.: QTLP 0048 low**

Version 10/18

GEN-IAL GmbH  
Tel: 0049 2241 2522980  
Fax: 0049 2241 2522989  
info@gen-ial.de  
www.gen-ial.de

# QuickGEN First-Beer PCR Kit

## Lactobacillus/Pediococcus Screening

Art. Nr.: QTLP 0048 low

(Version 10/18)

### 1. Verwendungszweck

Qualitativer Nachweis von *Lactobacillus spp.* und *Pediococcus spp.* in Getränken.

### 2. Testprinzip

Die Detektion erfolgt mittels Fluoreszenzmessung durch das Hydrolysesondenformat (TaqMan®). Durch hot-start-PCR plus doppelt markierten sequenzspezifischen Sonden (FAM/DQ) wird bei korrekter Hybridisierung an die Zielsequenz in der Extensions-Phase ein messbares Fluoreszenzsignal definierter Wellenlänge emittiert. Eine Inhibitionskontrolle (HEX/DQ) wird zusammen mit der spezifischen Sequenz in einem Reaktionsgefäß amplifiziert, um falsch negative Ergebnisse durch Inhibition auszuschliessen. Die PCR-Systeme enthalten dUTP, welches bei der Elongation zum Teil das dTTP ersetzt. Die Verwendung von Uracil-N-Glycosylase (UNG) eliminiert alle dUMP enthaltenden Amplikons, die aus eventuellen Kontaminationen früherer PCRs stammen könnten. Das UNG Enzym ist in diesem Kit nicht enthalten.

### 3. Packungsinhalt

Mit den Reagenzien können 48 Bestimmungen durchgeführt werden:

1 x Premix QTLP	weißer Deckel
48 x QTLP mix (lyophilisiert, inkl. IK-DNA)	tube strips
1 x ddH <sub>2</sub> O	farbloser Deckel
1 x Control-DNA (lyophilisiert)	gelber Deckel

#### **4. Lagerung**

**Die Control-DNA wird lyophilisiert geliefert und muss vor Gebrauch in ddH<sub>2</sub>O gelöst werden (siehe Punkt 6.1).**

Den lyophilisierten QTLP mix und die lyophilisierte Control-DNA nicht einfrieren.

Alle Reagenzien bis auf den Premix bei 4 – 8 °C lagern.

Den Premix bei -20 °C lagern. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren (> 3x) sollte vermieden werden, da dadurch die Sensitivität verringert wird. Bei unregelmäßigem Gebrauch sollte deshalb der Premix aliquotiert werden.

Der QTLP mix enthält die fluoreszenzmarkierten Sonden und ist lichtempfindlich. Aus diesem Grund sollte er nicht unnötigem Lichteinfall ausgesetzt werden.

Alle Reagenzien sind bei korrekter Lagerung 12 Monate haltbar.

#### **5. Zusätzlich erforderliches Material**

##### **5.1. Geräte**

Real-time Gerät für low profile PCR tubes clear

Zentrifuge passend für 1,5 – 2,0 mL Reaktionsgefäße

Zentrifuge für tube strips

Pipetten

„Vortex“

##### **5.2. Reagenzien und Verbrauchsmaterialien**

steriles, doppelt-destilliertes oder deionisiertes Wasser (ddH<sub>2</sub>O)

passende, sterile Filterspitzen (Filtertips)

optional: Uracil N-Glycosylase (0,01 U/μL PCR-Reaktion)

## 6. PCR

### 6.1. PCR-Ansatz

*Vor der ersten Benutzung muss die Control-DNA kurz zentrifugiert und in ddH<sub>2</sub>O gelöst werden:*

- die lyophilisierte Control-DNA in 55 µL ddH<sub>2</sub>O aufnehmen
- 15 Minuten lösen

**Alle PCR Komponenten vor Gebrauch gut mischen und kurz abzentrifugieren.**

PCR-Ansatz pro Probe:

PCR-Komponenten	Menge (µL)
Premix QTLP	15,0
Proben-DNA	5,0*
Gesamtvolumen	<b>20,0</b>

\* bei Verwendung des Simplex Easy DNA Kits: 2,5 µL DNA einsetzen und 2,5 µL steriles ddH<sub>2</sub>O hinzufügen

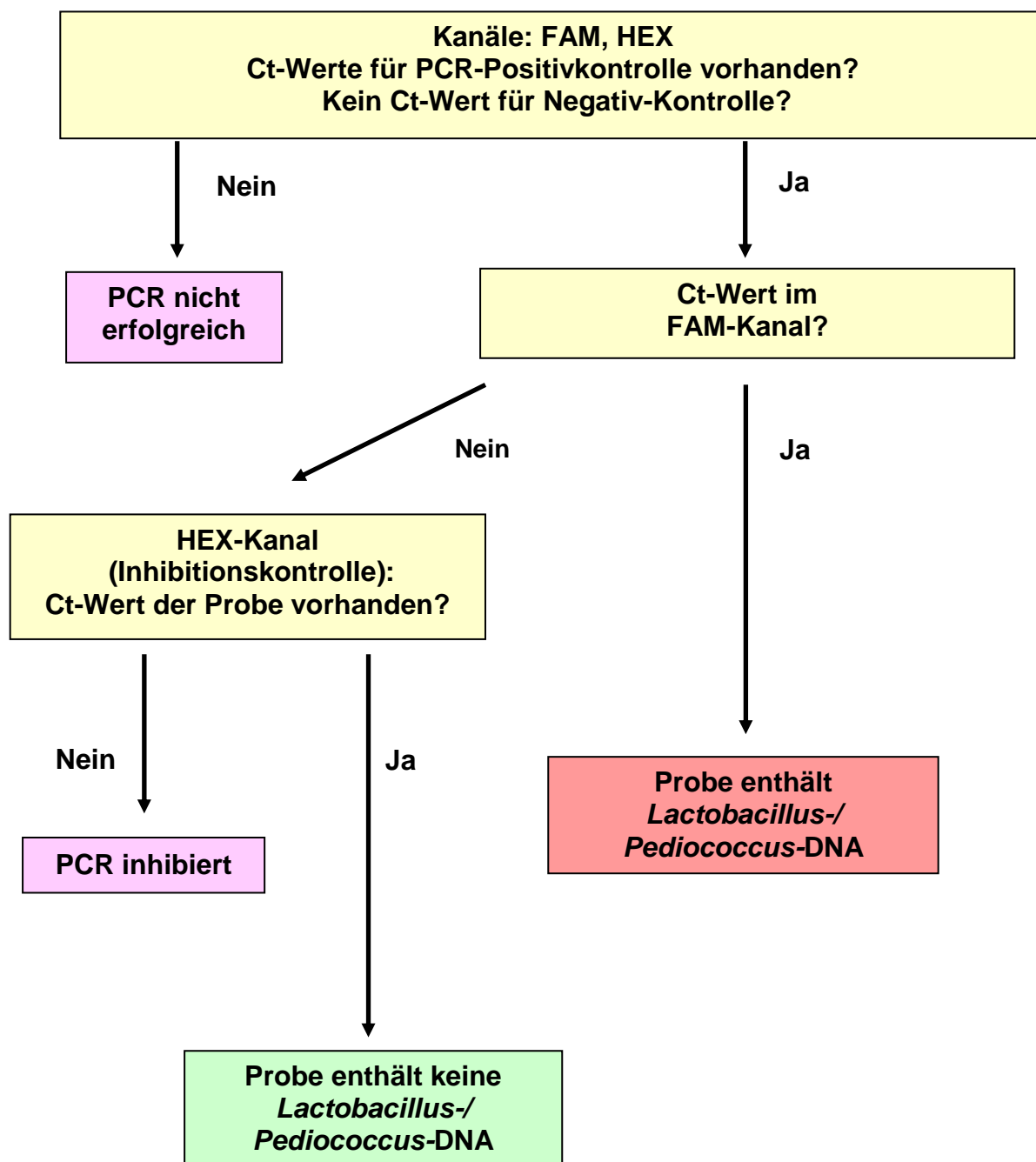
1. Je 15,0 µL Premix in die einzelnen PCR-Reaktionsgefäße füllen
2. 5 µL Proben-DNA zu den vorbereiteten PCR Gefäßen geben, für die PCR-Positivkontrolle 5 µL Control-DNA, für die Extraktionskontrolle 5 µL und für die PCR-Negativkontrolle\* 5 µL steriles ddH<sub>2</sub>O pipettieren (Pipettenspitzen unbedingt nach jeder Probe wechseln).
3. Die PCR-Reaktionsgefäße sofort verschließen und kurz zentrifugieren.
4. Die PCR-Gefäße ins PCR-Gerät stellen und den Lauf starten.

**Sehr wichtig: \* Die PCR-Negativkontrolle bitte auf jeden Fall mit 5 µL ddH<sub>2</sub>O auffüllen, um unspezifische Amplifikationen zu verhindern.**

**Zügig arbeiten, Lichteinfall und Erwärmung der Ansätze vermeiden.**



# Analysediagramm



Diese Angaben entsprechen dem heutigen Stand unserer Kenntnisse und sollen über unsere Produkte und deren Anwendungsmöglichkeiten informieren. Sie haben nicht die Bedeutung, bestimmte Eigenschaften der Produkte oder deren Eignung für einen konkreten Einsatzzweck zuzusichern. GEN-IAL übernimmt keine Gewährleistung, außer für die standardisierte Qualität der Reagenzien. Defekte Produkte werden ersetzt. Darüber hinaus gehende Ansprüche für direkte oder indirekte Schäden oder Kosten aus der Nutzung der Produkte entstehen nicht.

Rechtlicher Hinweis: Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ist patentrechtlich geschützt und somit lizenzpflichtig. Sie ist im Besitz der Hoffman-La Roche Inc. Diese Produktinformation versteht sich nicht als Autorisierung oder Lizenzierung, die PCR-Methode kommerziell anzuwenden.

# QuickGEN First-Beer PCR Kit

## Lactobacillus/Pediococcus Screening

Order No.: QTLP 0048 low

(Version 10/18)

### 1. Intended use

Qualitative detection of *Lactobacillus spp.* and *Pediococcus spp.* in beverages.

### 2. Test principle

The TaqMan<sup>®</sup> real-time PCR is based on hot-start-PCR and sequence-specific dual labelled probes (FAM/DQ) which, when accurately hybridised, emit a measurable fluorescent signal of a defined wavelength in the extension phase. The increase of signal is continuously measured in a real-time PCR detection instrument. To avoid false negative PCR-results an Inhibition Control (HEX/DQ) is amplified together in one reaction vessel with the specific sequence. The system contains dUTP. Optional: the use of Uracil-N-Glycosylase will eliminate any contamination with Uracil containing amplicons from former PCRs (the enzyme is not part of this kit).

### 3. Kit contents

The kit contains sufficient reagents for 48 PCR reactions:

1 x Premix QTLP	white cap
48 x QTLP mix (freeze-dried, incl. IC-DNA)	tube strips
1 x ddH <sub>2</sub> O	colourless cap
1 x Control-DNA (freeze-dried)	yellow cap

#### **4. Storage conditions**

**The Control-DNA is freeze-dried, it has to be solved in ddH<sub>2</sub>O prior to use (see 6.1).**

Do **not** freeze the lyophilized QTLP mix and lyophilized Control-DNA.

All PCR reagents, except the Premix should be stored at 4 – 8 °C (39 – 46 °F).

Keep Premix for storage at - 20 °C (- 4 °F). Avoid loss of sensitivity by repeating freezing and thawing more than 3 times. For irregular use aliquot the Premix.

The QTLP mix contains the fluorescent labelled probes and should be handled light protected.

All reagents are stable for 12 months, if they are stored correctly.

#### **5. Materials required, but not provided**

##### **5.1. Instruments**

Real-time PCR machine for low profile tubes clear

Centrifuge for 1.5 – 2.0 mL reaction tubes

Centrifuge for strips

Pipettes

“Vortex”

##### **5.2. Reagents and plastic ware**

sterile ddH<sub>2</sub>O

sterile filter tips

optional: Uracil N-Glycosylase (0.01 U/μL added to the PCR reaction)



## 6. PCR

### 6.1. PCR-setup

*When using the kit for the first time, the freeze-dried Control-DNA has to be shortly centrifuged and carefully resolved:*

- add 55  $\mu\text{L}$  sterile ddH<sub>2</sub>O to the freeze-dried Control-DNA
- after 15 minutes mix well

**Before every use thoroughly mix all PCR components and centrifuge briefly.**

PCR-reaction per sample:

PCR-components	amount ( $\mu\text{L}$ )
Premix QTLP	15.0
Sample-DNA	5.0*
Total volume	<b>20.0</b>

\* if using the Simplex Easy DNA Kit: add 2.5  $\mu\text{L}$  DNA and 2.5  $\mu\text{L}$  sterile ddH<sub>2</sub>O

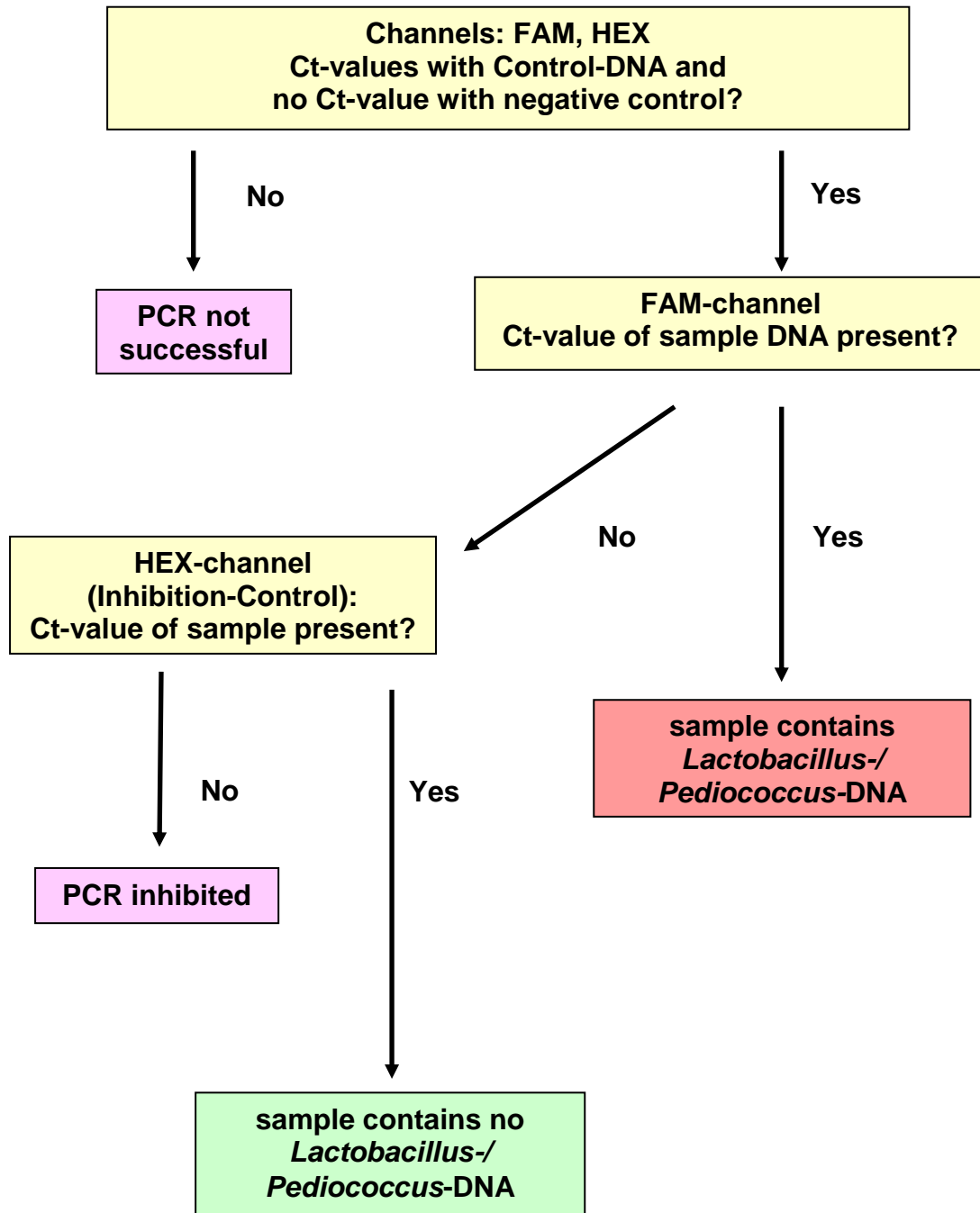
1. Pipette 15  $\mu\text{L}$  of the Premix into each PCR-tube, making sure that, prior to the first filling, the tip has been moistened.
2. Add 5  $\mu\text{L}$  sample DNA, add 5  $\mu\text{L}$  of the Control-DNA for the positive control reaction, add 5  $\mu\text{L}$  of the extraction control and 5  $\mu\text{L}$  of ddH<sub>2</sub>O for the negative control\* reaction. Use a fresh tip with each DNA filling.
3. Close the tubes immediately and centrifuge them shortly.
4. Place the tubes in the PCR-machine and start run.

**Very important: \* Please fill up the negative control with 5  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O to avoid unspecific amplification.**

**Work swiftly to avoid warming up and keep away from light.**



# analysis flowchart



Note:

The polymerase-chain reaction (PCR) is protected by patents and requires a licence from Hoffmann-LaRoche Inc..

The provided product does not authorise the purchaser for the commercial use of this method.

GEN-IAL makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. If any materials are defective, GEN-IAL will provide a replacement product. There is no warranty of merchantability of this product, or of the fitness of the product for any purpose. GEN-IAL shall not be liable for any damages, including special or consequential damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product.