

Analyse af miljøDNA-prøve

Vær opmærksom på!

For at kunne udføre laboratoriearbejdet skal flere grupper og elever arbejde på samme tid med forskellige miljøDNA-prøver, reagenser og arter. Ud over dette vil de tre forskellige laboratorie-metoder foregå sideløbende for at udnytte en ventetid, som optræder i DNA-ekstraktionen.

Vær derfor opmærksom på at de forskellige prøver og reagenser ikke krydskontaminerer hinanden!

DNA-ekstraktion

Der er indsamlet 2 miljøDNA-prøver i sterivex-filtre. DNA'et fra disse filtre skal ekstraheres (udtrækkes) fra filteret til brug i real-time PCR-analyse (qPCR-analyse). Hvert filter opdeles i 4 mindre del-ekstraktioner, som til sidst samles til én samlet, oprenset miljøDNA-prøve.

Måling af DNA-koncentration

Der måles DNA-koncentration på begge af de to oprenset miljøDNA-prøver. Klassen vælger miljøDNA-prøven med den højeste koncentration til videre qPCR-analyse.

qPCR-analyse af miljøDNA-prøve

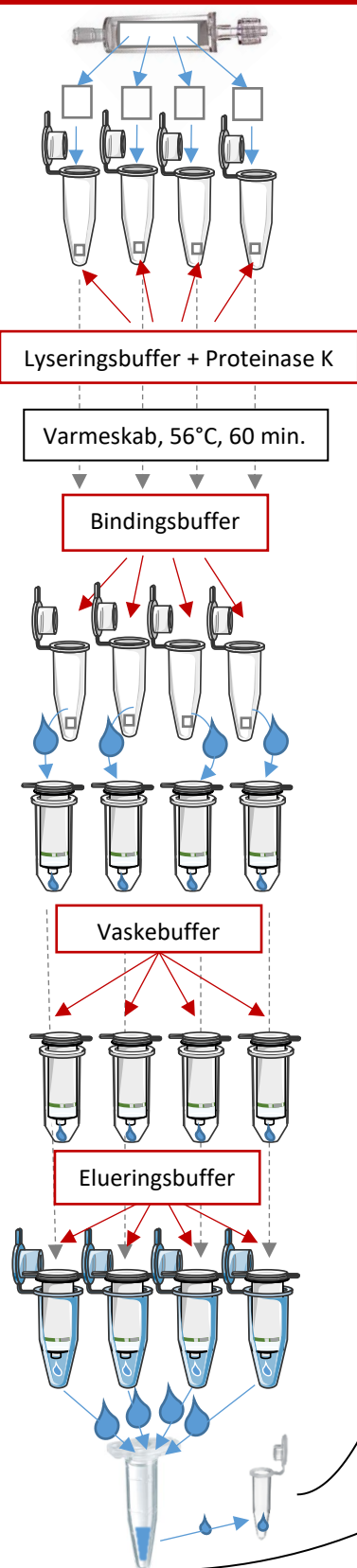
Den udvalgte miljøDNA-prøve analyseres vha. qPCR (eller real time PCR). Klassen skal i fællesskab lave i alt 24 qPCR-analyser af 12 forskellige arter (2 qPCR-analyser pr. art). I kan enten vælge, at hver elev laver én analyse, eller at flere elever arbejder sammen om en analyse, afhængig af, hvor mange elever der er i klassen. Vær opmærksom på, om prøven stammer fra **havvand** eller **ferskvand**.

Arter til qPCR-analyse:

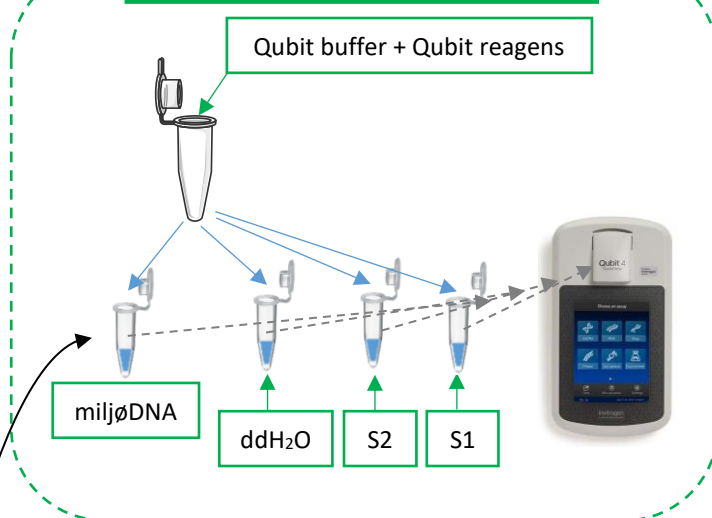
qPCR-analysenr.	HAVVANDsprøve		FERSKVANDsprøve	
	Dansk navn	Latinsk navn	Dansk navn	Latinsk navn
1	Aborre	<i>Perca fluviatilis</i>	Aborre	<i>Perca fluviatilis</i>
2	Aborre	<i>Perca fluviatilis</i>	Aborre	<i>Perca fluviatilis</i>
3	Trepigget hundestejle	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Trepigget hundestejle	<i>Gasterosteus aculeatus</i>
4	Trepigget hundestejle	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Trepigget hundestejle	<i>Gasterosteus aculeatus</i>
5	Europæisk ål	<i>Anguilla anguilla</i>	Europæisk ål	<i>Anguilla anguilla</i>
6	Europæisk ål	<i>Anguilla anguilla</i>	Europæisk ål	<i>Anguilla anguilla</i>
7	Sortmundet kutling	<i>Neogobius melanostomus</i>	Stor vandsalamander	<i>Triturus cristatus</i>
8	Sortmundet kutling	<i>Neogobius melanostomus</i>	Stor vandsalamander	<i>Triturus cristatus</i>
9	Blå svømmekrabbe	<i>Callinectes sapidus</i>	Løgfrø	<i>Pelobates fuscus</i>
10	Blå svømmekrabbe	<i>Callinectes sapidus</i>	Løgfrø	<i>Pelobates fuscus</i>
11	Asiatisk strandkrabbe	<i>Hemigrapsus sanguineus</i>	Grønbroget tudse	<i>Bufo viridis</i>
12	Asiatisk strandkrabbe	<i>Hemigrapsus sanguineus</i>	Grønbroget tudse	<i>Bufo viridis</i>
13	Pensel klippekrabbe	<i>Hemigrapsus takanoi</i>	Lille vandsalamander	<i>Lissotriton vulgaris</i>
14	Pensel klippekrabbe	<i>Hemigrapsus takanoi</i>	Lille vandsalamander	<i>Lissotriton vulgaris</i>
15	Stilkalge	<i>Prymnesium parvum</i>	Stilkalge	<i>Prymnesium parvum</i>
16	Stilkalge	<i>Prymnesium parvum</i>	Stilkalge	<i>Prymnesium parvum</i>
17	Furealge	<i>Alexandrium ostenfeldii</i>	Flodkrebs	<i>Astacus astacus</i>
18	Furealge	<i>Alexandrium ostenfeldii</i>	Flodkrebs	<i>Astacus astacus</i>
19	Amerikansk ribbegople	<i>Mnemiopsis leidyi</i>	Signalkrebs	<i>Pacifastacus leniusculus</i>
20	Amerikansk ribbegople	<i>Mnemiopsis leidyi</i>	Signalkrebs	<i>Pacifastacus leniusculus</i>
21	Marsvin	<i>Phocoena phocoena</i>	Galizisk sumpkrebs	<i>Astacus leptodactylus</i>
22	Marsvin	<i>Phocoena phocoena</i>	Galizisk sumpkrebs	<i>Astacus leptodactylus</i>
23	Spættet sæl	<i>Phoca vitulina</i>	Bred vandkalv	<i>Dytiscus latissimus</i>
24	Spættet sæl	<i>Phoca vitulina</i>	Bred vandkalv	<i>Dytiscus latissimus</i>

Overblik over laboratoriemetoderne

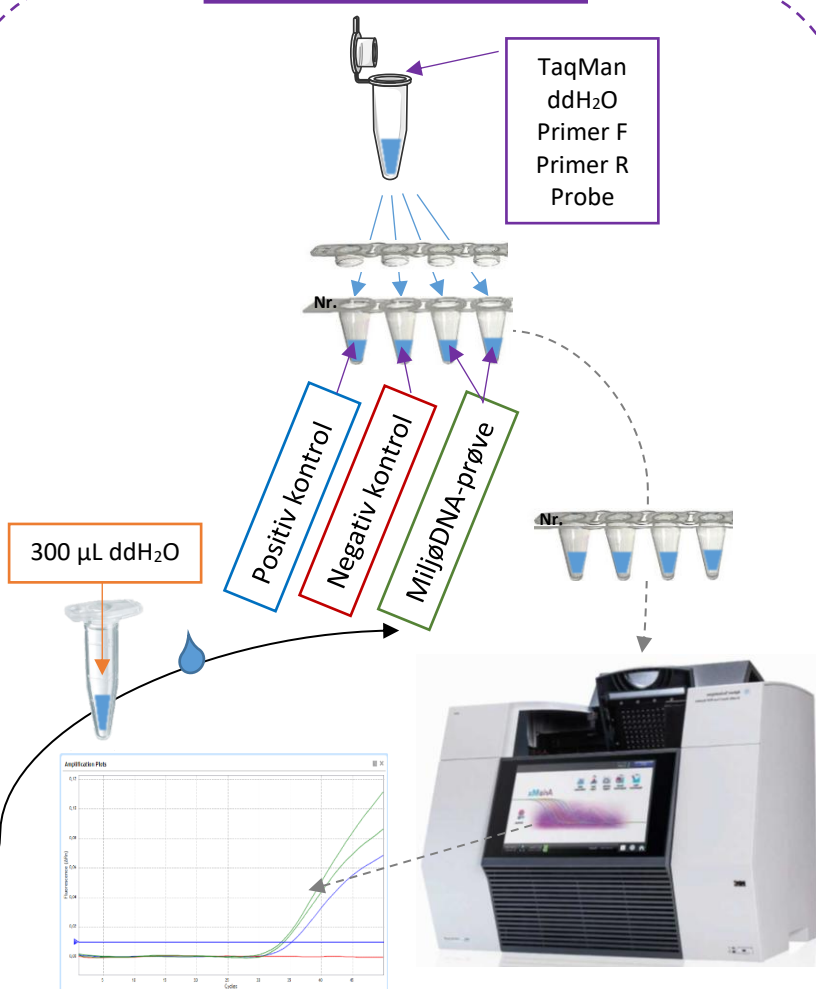
DNA-ekstraktion



Måling af DNA-koncentration



qPCR-analyse



DNA-ekstraktion fra ét Sterivex-filter

Prøvenummer fra sterivex-filter: _____

Vær opmærksom på: Vær omhyggelig med, at grupperne der arbejder med det ene filter ikke krydskontaminerer det andet filter, og omvendt. Hele ekstraktionen skal foregå i en plastbakke, for at undgå kontaminering og for at arbejdet kan flyttes til side i løbet af dagen. Hvert filter opdeles i 4 mindre del-ekstraktioner, så dvs. med 2 filtre skal der være 8 del-ekstraktioner i alt. Gem filternes klistermærke med prøvenr., som fulgte med den lille zip-lock pose til at sætte på den færdig ekstraherede miljøDNA-prøve.

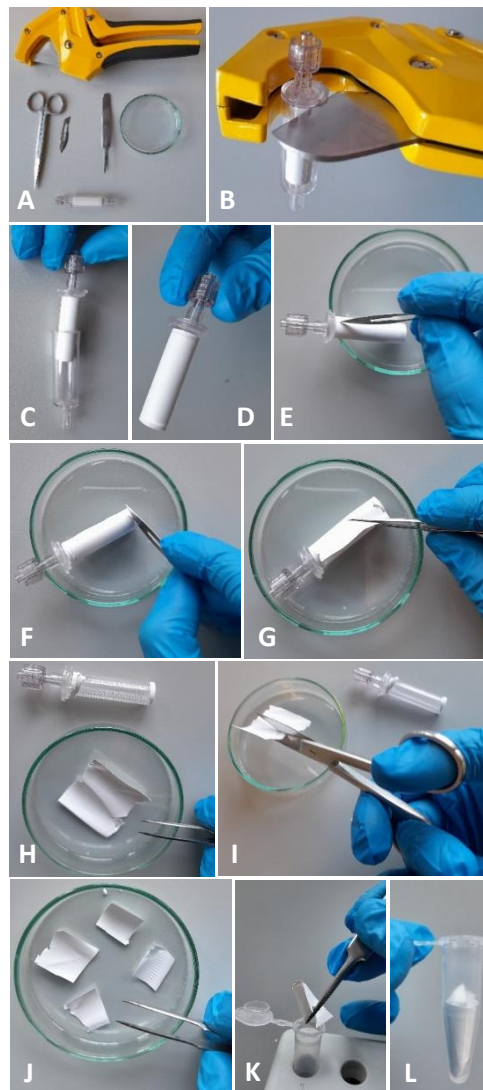
Inden I går i gang: sørg for at hele klassen har gennemgået, hvordan man arbejder sterilt og håndterer pipetter! Alle tager handsker og kitler på.

Åbning af sterivex-filter (Dette trin udføres af én gruppe eller én lærer pr. filter)

1. Tænd varmeskabet og sæt det til 50-55 °C.
2. Gør rent ved at aftørre bord og pipetter med papir fugtet med 5 % kloropløsning og efterfølgende 70 % ethanol.
3. Følgende udstyr steriliseres ved aftørring med 5% klor og efterfølgende 70 % ethanol: **plastbakke, petriskål, pincet, saks, skalpel og rørsaks (A)**.
4. Aftør sterivex-filteret med 5 % kloropløsning.
5. Skru propperne af begge ender af filteret (hvis muligt), og lad ethanolen løbe ud, hvis muligt.
6. Åben filteret ved at skære toppen af med en steriliseret rørsaks. Sæt saksens kniv ned i rillen mellem cylinderen og låget med det store gevind. (B).
7. Tag selve filterenheden ud (C) af cylinderen. Filteret er det hvide papir rundt om plastrøret (D).
8. Placer filterenheden i petriskålen. Med skalpel skæres den hvide filtermembran af selve plastcylinderen ved at skære ned langs papiret (E), og langs begge ender (F).
9. Med en pincet fjernes den hvide membran (G) og lægges ud petriskålen (H).
10. Skær/klip (I) filtermembranen i 4 stykker/bunker (J).
11. Anbring hver bunke med filterstykke i et eppendorf-rør (K). Skriv prøvens nr. på de fire låg. Prøven er nu klar til brug (L).

Lysering (alle grupper)

12. Omryst rør med **Lyseringsbuffer** i vortex'er i 5 sekunder og centrifuger røret i bordcentrifugen i 5 sekunder. Tilsæt **40 µL Lyseringsbuffer** til eppendorf-røret med stykker af filterpapiret. Pipetter forsigtigt væsken op og ned i røret omkring filterpapiret. Herved nedbrydes cellerne i filterpapiret, og DNA bliver tilgængeligt.
13. Centrifuger rør med **Proteinase K** i bordcentrifugen i 5 sekunder. Tilsæt **2,5 µL Proteinase K** til væsken i eppendorf-røret. Vortex røret i 5 sekunder. Herved nedbrydes bl.a. proteiner som kan ødelægge nukleinsyre.



Vortex'er: Bruges til at omryste væske i rør.



Bord-centrifuge: Bruges til at samle væske i bunden af et rør. Skal afbalanceres ved brug!



Stor centrifuge: Bruges til at få væske over membranen. Skal afbalanceres ved brug!

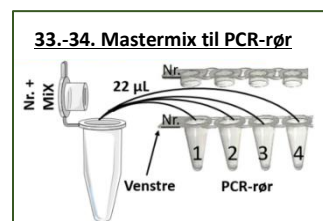
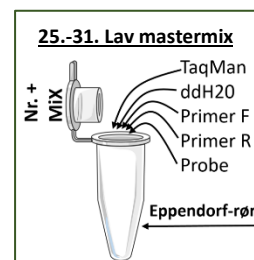
14. Centrifuger eppendorf-røret i den store centrifuge i 1 minut ved 8.000 rpm. Sørg for, at I kan huske og genkende jeres rør i centrifugen! Skriv evt. jeres gruppenr. på jeres rør. Husk at afbalancerer centrifugen (rør placeres over for hinanden), og husk at sætte centrifugens inderlåg på.
15. Sæt eppendorf-røret i en rotoren, og sæt rotoren i varmeskabet. Lad rørene rotere ved **50-55 °C i minimum 60 minutter**. Dette gør at DNA udtrækkes fra filteret og kommer ud i væsken.
16. Kasser alle brugte reagensrør og plastikdelene fra sterivex-filteret.
17. Rørsaks, skalpel, saks og petriskål steriliseres ved aftørring med 5 % klor og efterfølgende 70 % ethanol, og lægges på plads. Sæt plastbakken med den hvide rør-holder til side til senere brug.
18. Mens rørene står i varmeskabet, skal I nu forberede qPCR-analyse inden I arbejder videre med resten af ekstraktionen. Hvis I holder pause inden næste punkt, så sørg for at **reagenserne** tages ud fra fryseren og stilles til optøning.

qPCR-analyse af miljøDNA-prøve

(se protokollens side 1) qPCR-analysenr.: _____ Artsnavn: _____

Inden du går i gang, så vær opmærksom på følgende:

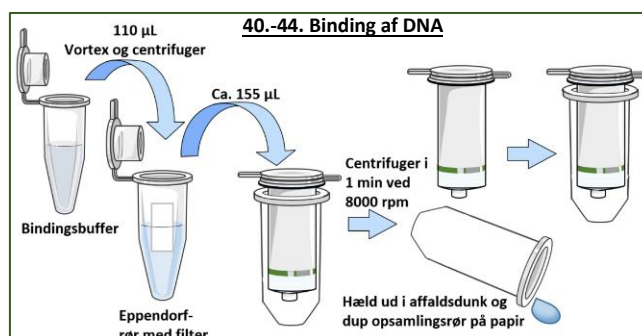
- Denne protokol er til udførelse af én artsanalyse. Der skal i alt laves 24 artsanalyser (se side 1).
 - Vær omhyggelig med, at reagenserne ikke kontaminerer hinanden eller udstyret.
 - Husk at pipettespidser kun må bruges én gang, og de herefter skal kasseres.
19. Gør rent: aftørre bord og pipetter med papir fugtet med 5 % klor og efterfølgende 70 % ethanol.
 20. Find en farvet æske med låg, hvor der er plads til forskellige type af rør. Æsken skal være nummeret fra nr. 1-24 (qPCR-analysenr). Nummeret angiver den art du skal arbejde med.
 21. Find 1 rør med **ddH₂O** og 1 rør med **TaqMan** pr. analyse.
 22. Find følgende reagenser for den art du arbejder med (se artslisten på side 1): 1 rør med **Primer F (+ artsnavn)**, 1 rør med **Primer R (+ artsnavn)** og 1 **Probe (+ artsnavn)**. Vent med at tage den positive kontrol til senere.
 23. Omryst rørene (TaqMan, Primer F, Primer R og Probe), et ad gangen, i vortex'eren i 5 sekunder.
 24. Centrifuger rørene (TaqMan, Primer F, Primer R og Probe) i bordcentrifugen i 5 sekunder.
 25. Tag et tomt eppendorf-rør. Dette bliver dit mastermix-rør. Skriv "**Mix**" og dit **analysenr.** på låget.
 26. Følgende reagenser skal tilsætte Mix-røret:
 27. Tilsæt 50 µL TaqMan til Mix-røret.
 28. Tilsæt 50 µL ddH₂O til Mix-røret. Gem røret med ddH₂O til punkt 83.
 29. Tilsæt 5 µL Primer F til Mix-røret.
 30. Tilsæt 5 µL Primer R til Mix-røret.
 31. Tilsæt 5 µL Probe til Mix-røret.
 32. Sæt låg på Mix-røret, og omryst røret i vortex'eren i 5 sekunder og efterfølgende centrifuger røret i bordcentrifugen i 5 sekunder (husk at afbalancere centrifugen, brug evt. et af de brugte reagensrør).
 33. Find en række med PCR-rør (4 små rør, der sidder sammen i en stribe, med tilhørende låg med udhæng). Skriv dit **analysenr.** på lågets og rørenes snip/udhæng. Skriv ikke andre steder!
 34. Tilsæt 22 µL af mastermixen fra Mix-røret til hver af de fire små PCR-rør. Her må pipettespidserne gerne genbruges imellem de fire rør.
 35. Sæt låget tilbage på rørene, og placer rørene på køl, mens I arbejder videre med DNA-ekstraktionen fra sterivex-filtrene. I kan evt. samle hele klassens 24 PCR-rør i en tom pipettespids-boks og stille boksen på køl.
 36. Lad de resterende rør blive i den farvede æske.



DNA-ekstraktion fra ét Sterivex-filter (fortsat)

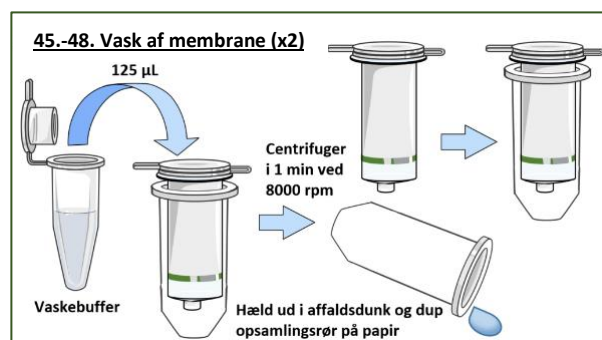
Binding af DNA (alle grupper)

37. Gør rent ved at aftørre bord og pipetter med papir fugtet med 5 % kloropløsning og efterfølgende 70 % ethanol.
38. Find gruppens plastbakken fra punkt 17, og sørg for at alt efterfølgende arbejde foregår i plastbakken for at undgå kontaminering. Find følgende reagenser og materialer: **Bindingsbuffer**, **Vaskebuffer**, **Elueringsbuffer**, **DNA-oprensningssøjle** med **Opsamlingsrør**, **blåt eppendorf-rør** og **køkkenrulle**. Sørg for at vortex og centrifuger reagenser inden brug.
39. Tag jeres eppendorf-rør med filterstykket fra punkt 15 ud af varmeskabet. Sluk varmeskabet.
40. Tilsæt **110 µL Bindingsbuffer** til eppendorf-røret med filterpapiret. Vortex røret i 5 sekunder, og centrifuger i 5 sekunder i bordcentrifugen. Kasser det brugte rør med bindingsbuffer.
41. Tag en **DNA-oprensningssøjle** og placer den i et **opsamlingsrør** (se figur). Skriv prøvenummeret på låget af oprensningssøjlen.
42. Overfør al væske fra eppendorf-røret (ca. 155 µL) til DNA-oprensningssøjlen, og kasser efterfølgende eppendorf-røret med filterstykket. DNA'et i væsken binder sig nu til den hvide membranen i oprensningssøjlen vha. bindingsbufferen.
43. Centrifuger DNA-oprensningssøjlen i opsamlingsrøret i den store centrifuge i 1 minut ved 8.000 rpm (se figur 'Binding af DNA'), således at væsken passerer igennem membranen og DNA'et kan binde sig til selve membranmaterialet. Sørg for, at I kan huske og genkende jeres rør i centrifugen, når flere centrifugerer sammen.
44. Hæld væsken fra opsamlingsrøret i **affaldsdunken**, dup røret af på køkkenrulle og sæt oprensningssøjlen tilbage i opsamlingsrøret (se figur).



Vask membranen (alle grupper)

45. Tilsæt **125 µL Vaskebuffer** til oprensningssøjlen. Dette gør, at alt andet end DNA bliver vasket ud væk fra membranen. Se figur 'Vask af membran x 2'.
46. Centrifuger oprensningssøjlen i opsamlingsrør i den store centrifugen i 1 minut ved 8.000 rpm. Sørg for, at I kan huske og genkende jeres rør i centrifugen, når flere centrifugere sammen.
47. Hæld væsken fra opsamlingsrøret i affaldsdunken, dup røret af på køkkenrullen. Placer oprensningssøjlen tilbage i opsamlingsrøret.
48. Gentag punkt 45-47, og kasser herefter det brugte rør med vaskebuffer.



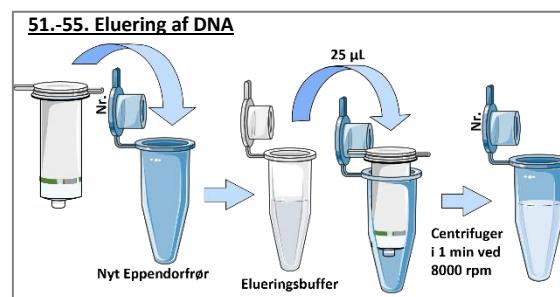
Tør membran (alle grupper)

49. Centrifuger oprensningssøjlen i opsamlingsrøret i 1 minut ved 8.000 rpm, således at membranen er helt tør for væske.
50. Hæld evt. væske fra opsamlingsrøret i affaldsdunken, dup røret af på køkkenrullen.

Frigør/eluer det rene DNA (alle grupper)

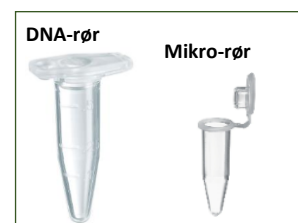
51. Tag et nyt, ubrugt blåt eppendorf-rør, og skriv jeres prøvenummer på rørets låg. Placer oprensningssøjlen i det blå eppendorf-rør. Kasser opsamlingsrøret, da dette kan indeholde uønskede molekyler og cellerester.

52. Tilsæt **25 µL Elueringsbuffer** til oprensningssøjlen, og kasser herefter det brugte rør med elueringsbuffer. Se figur 'Eluering af DNA'. Luk låget på oprensningssøjlen.
53. Inkuber (lad røret stå) ved stuetemperatur i 5 min. DNA'et slipper nu membranen i oprensningssøjlen og kommer ud i væsken. Det blå rør skal ikke lukkets.
54. Centrifuger oprensningssøjlen i det blå eppendorf-røret i den store centrifuge i 1 minut ved 8.000 rpm. Det blå låg skal pege sidelæns, således at centrifugens låg kan lukkes.
55. Væsken (miljø-DNA) er nu tilgængelig i det blå eppendorf-rør. Kasser oprensningssøjlen.



Samle alle del-ekstraktioner af samme miljøDNA-prøve (alle grupper med samme prøvenummer)

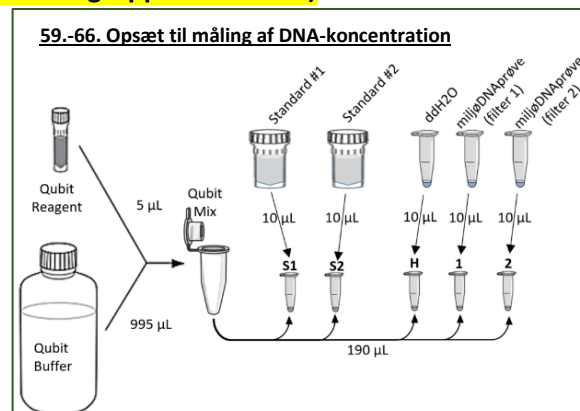
56. I skal nu samle alle 4 ekstraktioner fra samme filterenhed i ét **DNA-rør (LoBind-rør)**. Vent til de tre andre grupper er færdige og klar til dette trin. Alle grupper der har samme filter-prøvenummer overfører nu **25 µL miljø-DNA** fra eget blå rør til samme **DNA-rør**. Dette rør indeholder nu alle 4 del-ekstraktioner fra samme filter. Sæt klistermærket fra zip lock-posen (DL20xxxxx) på DNA-røret. DNA-rør er særlig gode til at opbevare DNA, da de lukker tættere og materialet ikke skader DNA'et.
57. Bland den samlede miljøDNA-prøve i DNA-røret ved at vortexe i 5 sekunder, og centrifuger i 5 sekunder.
58. Udtag **10 µL af miljøDNA-prøven** til et **mikro-rør** som bruges til måling af DNA-koncentration. Husk at mærke mikro-røret med miljøDNA-prøvens nummer.



Måling af DNA-koncentration på Qubit-maskine

(Måling af koncentration for begge miljøDNA-prøver, udføres af én gruppe eller lærer)

59. Opsæt 3 x mikro-rør til følgende reagenser, og skriv navn på rørets låg (navnet er angivet i parentes): ddH₂O (H), standardprøve 1 (S1), standardprøve 2 (S2).
60. Find mikrorør med 10 µL miljøDNA-prøve fra punkt 58. Der er nu 5 mikrorør for hele klassen.
61. Tag et nyt, tomt eppendorf-rør og skriv **Qubit-mix** på røret.
62. Tilsæt **5 µL Qubit-reagent** og **995 µL Qubit-buffer** til Qubit-mix-røret. Qubit-reagent er en farve, som binder til DNA. Qubit-buffer er en blanding af væske der stabiliserer nukleinsyre.



63. Tilsæt **190 µL Qubit-mix** til rørene **S1, S2**, og **H** (der vil fungerer som en negativ kontrol), brug gerne samme pipettespids. **190 µL Qubit-mix** til rørene med miljøDNA, skift pipettespids for hver. Se tegningen for instruks.
64. Tilsæt **10 µL standardprøve 1** til S1-røret. Kasser pipettespidsen.
65. Tilsæt **10 µL standardprøve 2** til S2-røret. Kasser pipettespidsen.
66. Tilsæt **10 µL ddH₂O** til H-røret. Kasser pipettespidsen.
67. Luk låget på rørene og vortex alle 5 mikrorør. Knips på rørene, for at fjerne evt. luftbobler.
68. Lad rørene inkubere (lad rørene stå) i 2 minutter ved stuetemperatur.
69. På Qubit-maskinen: Vælg **dsDNA High Sensitivity** og følg maskinens instruks.
70. Sæt S1-røret i holderen, luk maskinens låg, tryk '**Read standard**'. Tag røret ud.
71. Sæt S2-røret i holderen, luk maskinens låg, tryk '**Read standard**'. Tag røret ud.

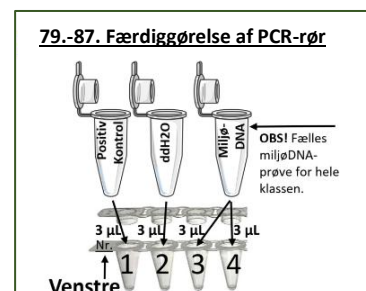
Nu har maskinen lavet en standardkurve på baggrund af de kendte standarder, og er nu klar til at måle koncentration af de sidste tre rør.

72. Tryk **'Run Samples'**. Indstil målingen til **10 µL** analyse-volumen, og enheden til **ng/µL**.
73. Sæt H-røret i holderen, luk maskinens låg, tryk **'Read tube'**. Røret er negativ kontrol, og maskinen burde derfor svare **'Too low'**. Tag røret ud.
74. Sæt det ene miljøDNA-rør i holderen, luk maskinens låg, tryk **'Read tube'**. Notér koncentrationen. Tag røret ud af holderen.
75. Sæt det andet miljøDNA-rør i holderen, luk maskinens låg, tryk **'Read tube'**. Notér koncentrationen. Tag røret ud af holderen.
76. Kasser Qubit-mix-røret samt alle fem mikro-rør.
77. Find begge DNA-rør med miljøDNA-prøver (fra punkt 57) og fortynd begge prøver ved at tilsætte **300 µL ddH₂O** (brug et nyt frisk rør ddH₂O!) til DNA-røret. Klassen udvælger i fællesskab den miljøDNA-prøve med højeste DNA-koncentration. Vær opmærksom på, at hele klassen kun skal bruge én af de to miljøDNA-prøver til qPCR-analyserne, og **det er vigtigt, at alle tager miljøDNA fra den samme miljøDNA-prøve**, og at denne prøve er fortyndet. Prøverne skal fortyndes for der er nok til alle analyser. Evt. del prøven op i eppendorf-rør så der er til hver gruppe. **VIGTIGT!** Overskydende væske samles tilbage i det oprindelige DNA-rør.

qPCR-analyse af miljøDNA-prøve (fortsat)

Under følgende arbejde har læreren tid til at opsætte filer til real-time PCR-maskine (se særskilt protokol, 'Guide_qPCR-maskine AriaMx og data').

78. Vask bordet med 5 % kloropløsning og 70 % ethanol. Aftør pipetter med 5% klor og efterfølgende 70 % ethanol.
79. Find dit PCR-rør (fra punkt 35) fra køleskabet, og placer rørene i din æske. Sørg for at snippen/udhænget vender mod venstre.
80. Find 1 rør **positiv kontrol (+ artsnavn)** (samme artsnavn som del 1) og 1 rør med **ddH₂O** (skal bruges som negativ kontrol).
81. Omryst positiv kontrol i vortex'eren i 5 sekunder, centrifuger efterfølgende positiv kontrol i bordcentrifugen i 5 sekunder (husk at afbalancere centrifugen).
82. Tag **forsigtigt** låget af PCR-rørene. Tilsæt 3 µL positiv kontrol til PCR-rør nr. 1 (røret tættest på snippen). Kassér pipettespiden.
83. Tilsæt 3 µL ddH₂O (negativ kontrol) til PCR-rør nr. 2. Brug ddH₂O-røret fra punkt. 28. Kassér pipettespiden.
84. Find **MiljøDNA-prøven** som I udvalgte efter koncentrationsmålingen i punkt 77. Det er vigtigt, at hele klassen bruger samme prøve.
85. Tilsæt 3 µL miljøDNA-prøve til PCR-rør nr. 3 og kassér pipettespiden.
86. Tilsæt 3 µL miljøDNA-prøve til PCR-rør nr. 4 og kassér pipettespiden.
87. Sæt låg på PCR-rørene. Sørg for at snipperne på rør og låg vender samme vej.
88. Bank let på rørene med en finger for at blande indholdet. Knips på rørene, hvis der er luftbobler. Bank rørene let i bordet, for at samle al væske i bunden.
89. Placer jeres PCR-rør i qPCR-maskinen efter særskilt guide. Maskinen sættes i gang af underviseren.
90. **Sørg for at klassens to miljøDNA-prøver kommer på frys.**
91. Kassér alle andre brugte rør. Rengør alt med klor og ethanol. Sørg for at alt udstyr og materialer er ryddet op og på rette plads.



ORDLISTE:

Bindingsbuffer – væske med kemikalier der kan facilitere binding imellem nukleinsyre og membran-materialet.

Centrifuge – apparat der bruges til at presse masser og væsker ned i bunden af rør ved centrifugalkraft.

Lyseringsbuffer – opløser celler ved nedbrydning af cellemembran.

ddH₂O – dobbelt destilleret vand.

Elueringsbuffer – væske med kemikalier der kan bryde binding af nukleinsyre fra membran-materialet.

Kontaminere – at forurene. Ved laboratoriearbejde med bl.a. DNA er det vigtigt at arbejde sterilt, så prøverne ikke bliver kontamineret og derved potentielt ødelagt.

Mastermix – en blanding af enzymer og reagenser der skal bruges til PCR-analyse.

MiljøDNA – DNA udskilt fra alle artsorganismer i et bestemt, afgrænset miljø.

Negativ kontrol - standardprøve bestående af ddH₂O. Bruges til at validere qPCR-analysens resultat, i forhold sporing af evt. kontamination.

Oprensningssøjle – Rør med indsat, fast silica-membran der kan tilbageholde nukleinsyre-molekyler fra 200-50.000 basepar.

Positiv kontrol – standardprøve med kendt indhold og koncentration af pågældendes arts DNA. Bruges til at validere qPCR-analysens resultat, i forhold til om primer og probens har reageret som forventet.

Primer – kort enkeltstrenget nukleinsyre, der bruges til at initiere startstedet for polymerasens replikation af DNA.

Probe - kort enkeltstrenget nukleinsyre bundet med fluorescerende molekyle, der udsender lyssignal ved denaturering.

Proteinase K – enzym der fordøjer proteiner.

qPCR – quantitative Polymerase Chain Reaction (Kvantitative Polymerase-Kæde-Reaktion).

Qubit-buffer – blanding af væske der stabiliserer nukleinsyre.

Qubit-reagent – Qubit-reagent er en farve, som binder til DNA

Standardprøve 1 og 2 – kalibranter der bruges til at indstille Qubit-maskinen, således at den har to referencepunkter at opmåle DNA-koncentration imod.

TaqMan – indeholder buffer, frie nukleotider og en termostabil polymerase, der er udvundet fra bakterien *Thermus aquaticus*. Polymerase bruges til at opformere (kopiere/replikere) DNA, og dens aktivitet er styret af reaktionens temperatur.

Vaskebuffer – væske med kemikalier der kan facilitere udvaskning af andre molekyler end nukleinsyre fra membran-materialet.

Vortex – apparat der bruges til at omryste væske i rør ved vibrationer.