

Encyclo полимераза

Кат. ## PK002S, PK002L

Версия 4 от 8 мая 2026 г.

Encyclo полимераза — смесь термостабильных ДНК-полимераз с «горячим стартом» для эффективной амплификации фрагментов ДНК с широкого спектра матриц.

Только для использования в научно-исследовательских целях.

Состав

Компонент	PK002S 200 реакций	PK002L 1 000 реакций
50X Encyclo polymerase mix	100 мкл	500 мкл (5 x 100 мкл)
10X Encyclo buffer	600 мкл	3 мл (5 x 600 мкл)

Условия хранения и транспортировки

Хранение и транспортировка: –20 °С.

Срок годности: 12 месяцев с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

Область применения

- Амплификация фрагментов ДНК до 20 т.п.о.
- Амплификация сложных смесей ДНК, образцов тотальной кДНК.
- ПЦР с малых количеств ДНК.
- Амплификация низкокопийных последовательностей со сложных матриц (геномная ДНК, первая цепь кДНК и т.п.).
- ПЦР-РВ с интеркалирующими красителями (SYBR Green I и др.).

Основные характеристики

- Высокая процессивность — до 20 т. п. о.
- Температурный оптимум активности: 70–74 °С.
- 5' → 3' ДНК-полимеразная активность.
- Отсутствие 5' → 3' экзонуклеазной активности.
- Корректирующая 3' → 5' экзонуклеазная активность.
- Быстрый «горячий старт» в первом цикле денатурации.
- Возможность клонирования продуктов ПЦР в ТА-векторы.

Протокол

▶ При постановке ПЦР соблюдайте зонирование помещений. Разделите зоны для приготовления реакционной смеси, внесения ДНК-матрицы, проведения ПЦР и анализа ПЦР-продукта.

1. Разморозьте при комнатной температуре все компоненты для ПЦР, кроме полимеразы. Перемешайте их содержимое на вортексе, сбросьте капли кратким центрифугированием.

▶ При обнаружении осадка в 10X Encyclo buffer, прогрейте буфер при +37 °С до полного растворения осадка.

2. Приготовьте реакционную смесь:

- рекомендуемый объем реакции — 25 мкл;
- для избежания погрешности дозаторов и дополнительных разведений компонентов реакции рекомендуется рассчитывать реакционную смесь минимум на 4 образца;
- в процессе работы все компоненты и пробирку с реакционной смесью держите во льду или в охлажденном штативе;
- предварительно выберите реакционный буфер:

10X Encyclo buffer, входящий в состав набора, содержит ионы Mg^{2+} в концентрации 35 мМ (в однократной ПЦР-смеси концентрация магния составляет 3.5 мМ). Если необходимо оптимизировать количество магния в ПЦР-смеси, рекомендуется использовать буфер без Mg^{2+} (кат. #PB011, Евроген) и 50 мМ раствор $MgCl_2$ (кат. #PB005, Евроген).

Для амплификации ДНК богатой GC-участками (>65% GC) воспользуйтесь 2X Encyclo GC буфер (кат. #PB013, Евроген) или добавьте в реакцию DMSO (2–5%) и/или бетаин (до концентрации 0.5–2М в реакционной смеси).

Чтобы получить ПЦР-продукт для анализа на агарозном геле без добавления специального буфера для нанесения проб можно воспользоваться 5X Encyclo Red буфером (кат. #PB012, Евроген).

Компонент*	Количество для реакции объемом 25 мкл
Вода деионизированная, свободная от нуклеаз	до 25 мкл (необходимо учесть объем ДНК-матрицы)
Буфер	2.5–12.5 мкл (в зависимости от кратности буфера)
MgCl ₂ (50 mM)	0.75–2 мкл (если Mg ²⁺ не входит в состав буфера)
Праймер 1 (10 мкМ)	0.5–1.25 мкл
Праймер 2 (10 мкМ)	0.5–1.25 мкл
dNTP (10 mM каждого)	0.5 мкл
50X Encyclo polymerase mix	0.5 мкл

* Рекомендуется использовать воду деионизированную свободную от нуклеаз (кат. #PB207S, Евроген), смесь dNTP (10 mM каждого) (кат. ## PB006S/L, Евроген).

3. Аккуратно перемешайте реакционную смесь на вортексе, сбросьте капли кратким центрифугированием.
4. Разнесите реакционную смесь в пробирки для ПЦР.
5. Внесите необходимое количество ДНК-матрицы в пробирки для ПЦР.
6. При использовании амплификатора без нагревающейся крышки, наложите поверх реакционной смеси минеральное масло.
7. Установите пробирки в амплификатор. Запустите программу, следуя рекомендациям:

Предварительная денатурация	92–95 °C	1–3 мин
	92–95 °C	5 с – 1 мин
Циклы ПЦР (оптимизировать)	T _m * (55–68 °C)	5 с – 1 мин
	72 °C	1 мин на 1–2 т.п.о.
Финальная достройка цепи**	72 °C	2–10 мин

* T_m — температура отжига праймеров.

** Финальная достройка цепи не является обязательной стадией; она используется для завершения процесса дупликации одноцепочечных фрагментов (например, при препаративной наработке ДНК).

- Рекомендуется минимизировать количество циклов ПЦР, так как их избыточное количество может привести к образованию неспецифических ПЦР-продуктов.
- Скорость элонгации 1–2 т.п.о. в минуту. Режим амплификации может отличаться для разных моделей термоциклеров.
- Для работы со сложными для амплификации фрагментами, например, с фрагментами, богатыми GC-участками (>65% GC) следует внести следующие изменения в стандартную программу ПЦР:
 - увеличить продолжительность предварительной денатурации до 5 минут;
 - увеличить температуру денатурации до 98 °С;
 - увеличить количество циклов ПЦР на 2–7.

ЗАО Евроген
Москва 117997
ул. Миклухо-Маклая 16/10, к. 15
Тел.: +7 (495) 784-7084
order@evrogen.ru
www.evrogen.ru