

ScreenMix-HS

5х окрашенная реакционная смесь ScreenMix-HS предназначена для проведения ПЦР анализа большого количества образцов. В состав ScreenMix-HS входят все необходимые компоненты ПЦР: высокопроцессивная Taq ДНК полимеразы со специфическими моноклональными антителами, смесь нуклеотидтрифосфатов, Mg^{2+} , ПЦР буфер, красители. Для постановки реакции ПЦР в смесь требуется добавить только праймеры, матрицу ДНК и воду.

Продукт	Кат. #	Объем смеси	Кол-во реакций по 25 мкл
ScreenMix-HS	PK143	0.5 мл	100
	PK144	10 x 0.5 мл	1000
	RKT43*	0.1 мл	20

* Тестовый образец, не предназначен для продажи.

Хранение и транспортировка: при -20°C; не более 50 циклов замораживания-размораживания.

Срок хранения: при соблюдении условий хранения и транспортировки 1 год.

Свойства полимеразы

- 5'>3' полимеразная активность
- 5'>3' экзонуклеазная активность
- Быстрый горячий старт в первом цикле денатурации (95°C, 5-10 сек)

Свойства реакционной смеси

- В 1х реакционной смеси концентрация магния 3 mM, концентрация каждого нуклеотидтрифосфата 0.2 mM;
- Смесь оптимизирована для специфичной работы Taq ДНК полимеразы, длительного хранения, многократного замораживания-размораживания;
- Смесь содержит красный и желтый красители, не влияющие на работу полимеразы, и компоненты, увеличивающие плотность пробы для удобства нанесения на гель.

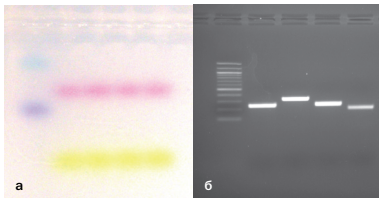
Примечание: В 1% агарозном геле с 1х TAE буфером электрофоретическая подвижность красного красителя соответствует фрагменту ДНК размером 1000 п.н., желтый краситель мигрирует с фронтом на уровне фрагментов 20-30 п.н.

Преимущества использования

- Сокращается время на подготовку реакции.
- Снижается вероятность контаминации при смешивании компонентов ПЦР.
- Стандартизируются условия постановки однотипных реакций (снижается погрешность при смешивании компонентов ПЦР в разных экспериментах).
- Автоматический горячий старт повышает специфичность реакции.
- Облегчается стадия нанесения на гель. Благодаря высокой плотности смеси добавления в пробу буфера для нанесения не требуется.
- Возможность клонирования продуктов ПЦР в Т-вектор (например, рAL-TA вектор, кат.#ТА001) за счет выступающих на концах амплифицированных фрагментов ДНК дезоксиаденозиновых остатков.

Ограничения к использованию

- Не рекомендуется использовать для ампликонов длиной свыше 3 т.п.о. Для амплификации длинных фрагментов ДНК рекомендуется использовать набор Encyclo PCR kit (кат.# PK001).
- Не рекомендуется использовать для амплификации сложных смесей ДНК и для высокоточной амплификации фрагментов ДНК. Для решения таких задач рекомендуется использовать набор Encyclo PCR kit (кат.# PK001) и Tersus PCR kit (кат.# PK021), соответственно.
- Из-за содержания красителя смесь ScreenMix-HS не может использоваться для ПЦР в реальном времени и других приложений, требующих измерения оптического поглощения или флуоресценции пробы. Для таких приложений следует использовать смесь qPCRmix-HS, qPCRmix-HS SYBR или qPCRmix-HS SYBR+ROX.



Результат
гель-электрофореза
(1,5% агароза) продуктов
ПЦР

(а) - в дневном свете;

(б) - в ультрафиолете.

Протокол выполнения амплификации

1. Разморозьте реакционную смесь и тщательно перемешайте.
2. Смешайте компоненты реакции в следующей последовательности:

Компонент	Количество на 25 мкл реакции	Конечная концентрация
Стерильная вода	до 25 мкл	-
ScreenMix-HS	5 мкл	1x
ПЦР праймер 1	переменное	0.2 - 0.4 мкМ
ПЦР праймер 2	переменное	0.2 - 0.4 мкМ
ДНК-матрица	переменное	1-100 нг на реакцию

Примечание: в случае использования амплификатора без греющейся крышки, добавьте в каждую пробирку каплю минерального масла.

3. Режим амплификации

Стадия	Кол-во циклов	Температура	Время инкубации
Предварительная денатурация	1	95°C	5 мин
Денатурация		94-95°C	15 - 30 сек
Отжиг	до 40	T _m (50-68°C)	15 - 30 сек
Элонгация		68 - 72°C	30 - 60 сек на 1 т.п.о.

T_m - оптимальная температура отжига определяется структурой праймеров и варьирует от 50 до 68°C. Для приблизительного расчета температуры отжига (T_m) можно воспользоваться формулой: T_m (°C) = 2 x (A+T) + 4 x (G+C).

4. После проведения ПЦР проанализируйте продукты амплификации электрофорезом. Пробы наносятся на гель без добавления буфера для нанесения.

Примечание: Мы рекомендуем использовать 1xTAE буфер с бромистым этидием для разделения продуктов реакции электрофорезом. Использование буферов, содержащих борат-ионы (TBE буфер) для разделения смеси ScreenMix нежелательно.

ЗАО Евроген
Москва 117997
ул. Миклухо-Маклая 16/10, корпус 70
(Технопарк ИБХ)
Тел.: +7(495)988-4083
Факс: +7(495)988-4085
www.evrogen.ru