

qPCRMix-HS

5x реакционная смесь qPCRMix-HS предназначена для высокоспецифичной амплификации ДНК, в частности при анализе большого количества образцов. Возможно применение qPCRMix-HS для ПЦР в реальном времени с флуоресцентными зондами (TaqMan пробы) или интеркалирующими красителями (SYBR Green, EVA Green).

В состав qPCRMix-HS входят все необходимые компоненты ПЦР: высокопроцессивная Taq ДНК полимеразы со специфическими моноклональными антителами, смесь нуклеотидтрифосфатов, Mg^{2+} , ПЦР буфер.

Для постановки реакции ПЦР в смесь требуется добавить только праймеры, матрицу ДНК и воду. При использовании для ПЦР в реальном времени в смесь добавляются компоненты для детекции ДНК в зависимости от применяемого метода.

Продукт	Кат. #	Объем смеси	Кол-во реакций по 25 мкл
qPCRMix-HS	PK145	0.5 мл	100
	PK146	10 x 0.5 мл	1000
	PKT45*	0.1 мл	20

* Тестовый образец, не предназначен для продажи.

Хранение и транспортировка: при $-20^{\circ}C$; 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 1x 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.

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.

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.

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	-
qPCRmix-HS	5 мкл	1x
ПЦР праймер 1	переменное	0.2 - 0.4 мкМ
ПЦР праймер 2	переменное	0.2 - 0.4 мкМ
Интеркалирующий краситель или флуоресцентный зонд	переменное	в зависимости от применяемой методики
ДНК-матрица	переменное	1-100 нг на реакцию

3. Режим амплификации

Стадия	Кол-во циклов	Температура	Время инкубации
Предварительная денатурация	1	95°C	5 мин
Денатурация		94-95°C	10 - 30 сек
Отжиг	до 50	T _m (50-68°C)	10 - 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. Если продукты амплификации анализируются электрофорезом, мы рекомендуем использовать 1xTAE буфер с бромистым этидием. Использование буферов, содержащих борат-ионы (TBE буфер) для разделения смеси qPCRmix-HS 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