

KTNmix-HS

5x реакционная готовая смесь для высокоспецифической и высоковоспроизводимой амплификации ДНК. Применяется для количественной и качественной ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени с интеркалирующими красителями (SYBR Green, Eva Green) и с флуоресцентными зондами, кроме TaqMan проб.

В состав KTNmix-HS входят все необходимые компоненты ПЦР: KTN полимеразы, инактивированная специфическими моноклональными антителами, смесь нуклеотидтрифосфатов, оптимизированный буфер, ионы магния.

Особенностью KTN полимеразы является отсутствие 5'>3' экзонуклеазной активности, что исключает использование смеси KTNmix-HS для анализа с Taq-Man пробами; по сравнению с Taq полимеразой KTN полимеразы обладает более высокой чувствительностью к матрице, более устойчива к ингибиторам ПЦР.

Для постановки ПЦР в реакционную смесь требуется добавить 1/5 объема KTNmix-HS, праймеры, матрицу ДНК и воду, а при постановке ПЦР-PB – флуоресцентные красители или пробы.

Продукт	Кат. #	Объем смеси	Кол-во реакций по 25 мкл
KTNmix-HS	PK157S	0.5 мл	100
	PK157L	5.0 мл (10 x 0.5 мл)	1000

Хранение и транспортировка: при -20 °С.

Срок хранения: при соблюдении условий хранения и транспортировки 1 год с момента продажи.

Использование: не более 50 циклов замораживания-размораживания.

Перед использованием разморозить при комнатной температуре и хорошо перемешать переворачиванием пробирки без образования пены.

Свойства KTN полимеразы

- 5'>3' полимеразная активность
- Отсутствует 5'>3' и 3'>5' экзонуклеазная активность
- Возможность клонирования продуктов ПЦР в TA-вектор
- Быстрый горячий старт в первом цикле денатурации (95°C, 5-10 сек)

Свойства реакционной смеси

- В 1x реакционной смеси концентрация магния 3 mM, каждого нуклеотидтрифосфата 0.2 mM
- Оптимизирована для длительного хранения, многократного замораживания-размораживания
- Обеспечивает высокий выход продуктов амплификации с разнообразных ДНК-матриц при минимальной неспецифической амплификации

Преимущества использования

- Сокращается время на подготовку реакции
- Снижается вероятность контаминации при смешивании компонентов ПЦР
- Стандартизируются условия постановки однотипных реакций, уменьшается погрешность при постановке реакций
- Автоматический горячий старт повышает специфичность реакции
- Компоненты реакции можно смешивать при комнатной температуре

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.
- KTNmix-HS нельзя использовать для реакций с TaqMan пробамми, где разгорание зонда происходит в результате 5'>3' экзонуклеазной активности полимеразы.

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	–
5xKTN-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 °С	5 мин
Денатурация		94-95 °С	10-30 сек
Отжиг	до 50	Tm (50-68 °С)	10-30 сек
Элонгация		68-72 °С	30-60 сек на 1 т.п.о.

Tm – оптимальная температура отжига, определяется структурой праймеров и варьирует от 50 до 68 °С. Для приблизительного расчета температуры отжига (Tm) можно воспользоваться формулой: $Tm (^{\circ}C) = 2 \times (A+T) + 4 \times (G+C)$.

4. Если продукты амплификации анализируются электрофорезом, мы рекомендуем использовать 1X TAE буфер с бромистым этидием. Использование буферов, содержащих борат-ионы (TBE буфер) для разделения смеси 5xKTN-HS нежелательно.

Продукты и услуги компании Евроген

Молекулярная биология

Наборы для выделения и очистки нуклеиновых кислот **P**»»»

Маркеры длин ДНК **P**»»»

Реактивы для ПЦР и ПЦР-РВ **P**»»»

Приготовление библиотек кДНК **P**»»» **S**»»»

Синтез кДНК и RACE **P**»»» **S**»»»

Клонирование ДНК **P**»»» **S**»»»

Нормализация кДНК **P**»»» **S**»»»

Практикум по геной инженерии **P**»»»

Синтез олигонуклеотидов и зондов **S**»»»

Секвенирование по Сэнгеру **S**»»»

Секвенирование следующего поколения (NGS) **S**»»»

Синтез генов **S**»»»

Сайт-направленный мутагенез **S**»»»

Техническая поддержка: customer-support@evrogen.ru

P»»» – ссылка на страницу ПРОДУКТА

S»»» – ссылка на страницу УСЛУГИ

Клеточная биология

Выявление микоплазменной контаминации **P**»»»

Флуоресцентные белки **P**»»»

Генетически-кодируемые сенсоры и фотосенсибилизаторы **P**»»»

Антитела против флуоресцентных белков **P**»»»

Временная трансфекция клеточных линий **S**»»»

Конструирование и сборка лентивирусных частиц **S**»»»

Создание стабильно трансфицированных клеточных линий **S**»»»

Техническая поддержка: customer-support@evrogen.ru

Молекулярная медицина

Молекулярная онкология и молекулярная генетика наследственных заболеваний **S**»»»

Техническая поддержка: oncology@evrogen.ru

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