

KTNmix-HS

Версия 02 от 13 марта 2018 г.

KTN-полимераза – модифицированная Taq-полимераза, у которой отсутствует 5'>3' экзонуклеазная активность.

5X реакционная смесь KTNmix-HS применяется для ПЦР-РВ с флуоресцентными зондами или праймерами по технологиям, основанным на изменении конформации зонда **без его разрушения** (технологии Scorpion, Amplifluor, LUX и другие).

В состав KTNmix-HS входят: KTN-полимераза, инактивированная специфичными моноклональными антителами; смесь dNTP, оптимизированный буфер и ионы магния.

Для постановки ПЦР к смеси необходимо добавить праймеры, флуоресцентные пробы и ДНК-матрицу.

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
- Длина продукта ПЦР до 3 т.п.о.
- Продукт ПЦР можно клонировать в TA-вектор

Свойства реакционной смеси

- Быстрый горячий старт в первом цикле денатурации (95°C, 5-10 сек)
- В итоговой реакционной смеси концентрация ионов магния 3 мМ, каждого нуклеотидтрифосфата 0.2 мМ
- Оптимизирована для длительного хранения, многократного замораживания-размораживания
- На время подготовки ПЦР допускается инкубация при комнатной температуре (не требует ледяной бани)

Ограничения к использованию

- Не рекомендуется использовать для ампликонов длиной свыше 3 т.п.о. Для этих целей подходит Epcuslo полимеразы (кат. # PK002S/L)
- KTNmix-HS не предназначена для TaqMan-зондов (технология, по которой происходит разгорание в результате 5' > 3' экзонуклеазной активности полимеразы). Для решения таких задач рекомендуется использовать смеси линейки qPCRMix-HS (кат. # PK145S/L) с Taq-полимеразой
- Не рекомендуется использовать с интеркалирующими красителями (SYBR Green I и др.)

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
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 анализируют с помощью гель-электрофореза, рекомендуется использовать 1X TAE буфер. Нежелательно использовать буферы, содержащие борат-ионы (TBE буфер).

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

Молекулярно-генетические исследования

Исследования в области молекулярной онкологии и генетики 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