

qPCRMix-HS HighROX

5x реакционная смесь qPCRMix-HS HighROX предназначена для постановки ПЦР в присутствии референсного красителя ROX, и позволяет получать результаты со значительным превышением уровня сигнала над фоновой флуоресценцией и низким порогом насыщения реакции (cycle threshold, Ct).

В состав qPCRMix-HS HighROX входят следующие компоненты: высокопроцессивная HS Taq ДНК полимеразы, референсный краситель ROX, смесь dNTP, Mg²⁺, ПЦР буфер. Для постановки ПЦР в смесь требуется добавить праймеры, матрицу ДНК, воду и краситель/зонд для детекции продукта.

qPCRMix-HS HighROX подходит для real-time амплификаторов, требующих высокой концентрации красителя ROX в реакции: Life Technologies (ABI) 7000, 7300, 7700, 7900, 7900HT, StepOne Plus, StepOne.

Финальная концентрация ROX в реакции 500 нМ.

Продукт	Кат. #	Объем смеси	Кол-во реакций по 25 мкл
qPCRMix-HS HighROX	PK153S	0.5 мл	100
	PK153L	10 x 0.5 мл	1000
	PK153T*	0.1 мл	20

* Тестовый образец, не предназначен для продажи.

Хранение и транспортировка: при -20°C, в темноте; не более 10 циклов замораживания-размораживания.

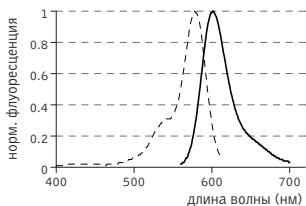
Срок хранения: при соблюдении условий хранения и транспортировки 1 год.

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 мМ, концентрация каждого нуклеотидтрифосфата 0.2 мМ;
- Максимумы возбуждения и флуоресценции красителя ROX в буферной системе смеси – 578 нм и 600 нм, соответственно.



Спектр возбуждения и флуоресценции для красителя ROX в реакционной смеси, pH 8.0. Пунктирная линия – возбуждение, сплошная – флуоресценция.

Преимущества использования

- Краситель ROX позволяет нормировать сигнал репортерной флуоресценции;
- Позволяет получать результаты со значительным превышением уровня сигнала над фоновой флуоресценцией и низким порогом насыщения реакции (cycle threshold, Ct)
- 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 прямой амплификации с крови.
- Не рекомендуется использовать для ампликонов длиной свыше 3 т.п.о. Для амплификации длинных фрагментов ДНК рекомендуется использовать набор Encyclo Plus PCR kit (кат.# PK101).
- Смеси, содержащие краситель ROX, не рекомендуется использовать на приборах LightCycler®, Roche, США.

Протокол выполнения амплификации

1. Разморозьте реакционную смесь и тщательно перемешайте. При замешивании не оставляйте надолго смесь на свету и при комнатной температуре.
2. Смешайте компоненты реакции в следующей последовательности:

Компонент	Количество на 25 мкл реакции	Конечная концентрация
Стерильная вода	до 25 мкл	-
qPCRMix-HS HighROX	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	10 - 30 сек

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).

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