

qPCRMix-HS ROX

5x реакционная смесь qPCRMix-HS ROX оптимизирована 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 ROX входят следующие компоненты: высокопроцессивная Taq ДНК полимеразы со специфическими моноклональными антителами, референсный краситель ROX, смесь нуклеотидтрифосфатов, Mg²⁺, ПЦР буфер. Для постановки ПЦР в смесь требуется добавить праймеры, матрицу ДНК, воду и краситель/зонд для детекции продукта.

qPCRMix-HS ROX подходит для real-time амплификаторов, имеющих канал для регистрации красителя ROX (ABI, Stratagene и др.).

| Продукт | Кат. # | Объем смеси | Кол-во реакций по 25 мкл |
|----------------|---------|-------------|--------------------------|
| qPCRMix-HS ROX | PK149S | 0.5 мл | 100 |
| | PK149L | 10 x 0.5 мл | 1000 |
| | PK149T* | 0.1 мл | 20 |

* Тестовый образец, не предназначен для продажи.

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

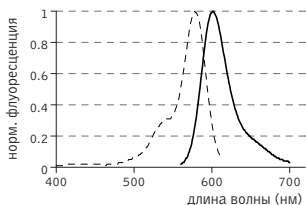
Срок хранения: при соблюдении условий хранения и транспортировки 1 год.

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 mM, концентрация каждого нуклеотидтрифосфата 0.2 mM;
- 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 PCR kit (кат.# PK001).
- 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 ROX | 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 | Tm (50-68°C) | 10 - 30 сек |
| Элонгация | | 68 - 72°C | 10 - 30 сек |

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

ЗАО Евроген
Москва 117997
ул. Миклухо-Маклая 16/10, к. 15
Тел.: +7(495) 784-7084
order@evrogen.ru
www.evrogen.ru