

qPCRMix-HS SYBR

5x реакционная смесь qPCRMix-HS SYBR предназначена для ПЦР в реальном времени с интеркалирующим красителем SYBR Green I.

В состав qPCRMix-HS SYBR входят все необходимые компоненты для ПЦР (высокопроцессивная Taq ДНК-полимераза с "горячим стартом", краситель SYBR Green I, смесь нуклеотидтрифосфатов, Mg^{2+} , ПЦР буфер). Для постановки реакции ПЦР в смесь требуется добавить праймеры, матрицу ДНК и воду.

qPCRMix-HS SYBR подходит для real-time амплификаторов любого типа.

Продукт	Кат. #	Объем смеси	Кол-во реакций по 25 мкл
qPCRMix-HS SYBR	PK047	0.5 мл	100
	PK048	10 x 0.5 мл	1000
	PKT47*	0.1 мл	20

* Тестовый образец, не предназначен для продажи.

Хранение и транспортировка: при $-20^{\circ}C$, в темноте; не более 20 циклов замораживания-размораживания.

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

Свойства полимеразы

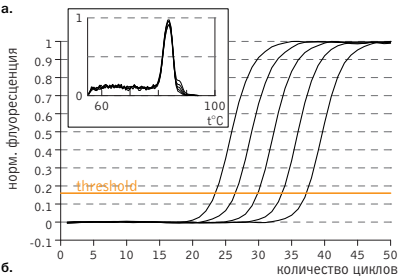
- 5'>3' полимеразная активность
- 5'>3' экзонуклеазная активность
- "горячий старт" в первом цикле денатурации (2-3 мин, $95^{\circ}C$)

Свойства реакционной смеси

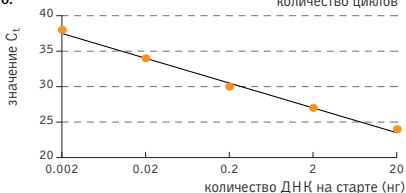
- В 1x реакционной смеси концентрация магния 3 mM, концентрация каждого нуклеотидтрифосфата 0.2 mM;
- Смесь оптимизирована для специфичной работы Taq ДНК-полимеразы, длительного хранения, многократного замораживания-размораживания;

Смесь qPCRmix-HS SYBR оптимизирована для постановки ПЦР с SYBR Green I и позволяет получать результаты со значительным превышением уровня сигнала над фоновой флуоресценцией и низким порогом насыщения реакции (cycle threshold, Ct).

а.



б.



Результат ПЦР в режиме реального времени с использованием готовой смеси для ПЦР qPCRmix-HS SYBR фрагмента гена *hax1*. Фрагмент амплифицирован с использованием в качестве матрицы последовательных разведений геномной ДНК человека (20 нг; 2 нг; 0.2 нг; 20 пг; 2 пг на старт реакции). (а) График нарастания флуоресценции при амплификации после сглаживания. (б) Калибровочный график.

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);
- "Горячий старт" ПЦР 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).

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 SYBR	5 мкл	1X
ПЦР праймер 1	переменное	0.2 - 0.4 мкМ
ПЦР праймер 2	переменное	0.2 - 0.4 мкМ
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, к. 15
Тел.: +7 (495) 784-7084
order@evrogen.ru
www.evrogen.ru