

Clavularia FP cloning set

Кат. # MB001

Версия 2 от 21 августа 2024 г.

Clavularia FP cloning set — набор для проведения практикума по генной инженерии для студентов 3–4 курса, специализирующихся в области молекулярной биологии, генетики, вирусологии и смежных специальностей, а также для повышения профессионального уровня аспирантов и начинающих исследователей.

В рамках практикума на примере клонирования и экспрессии гена флуоресцентного белка из кораллового полипа рода *Clavularia* отрабатывается ряд базовых методов, широко применяемых в современной генной инженерии, в том числе выделение суммарной РНК, обратная транскрипция, амплификация кДНК в полимеразной цепной реакции (ПЦР), поиск и клонирование участков интересующего гена с применением вырожденных праймеров, поиск генов в экспрессионной библиотеке, экспрессия белка. В качестве модельного объекта исследования выбраны флуоресцентные белки, окраска которых видна невооруженным глазом (при относительно высоких концентрациях).

Практикум включает 5 задач, моделирующих реальное научное исследование. Задачи могут быть выполнены в комплексе (по очереди) или отдельно друг от друга. При недостатке времени, оборудования и т.д. некоторые задачи могут быть исключены из программы практикума. Набор Clavularia FP cloning set содержит праймеры для амплификации фрагментов генов флуоресцентных белков, а также все необходимые исходные материалы (образцы нуклеиновых кислот), позволяющие осуществить любую из задач без выполнения предыдущих.

Набор рассчитан на проведение одного практикума (задачи 1–5) на группу от 3 до 9 человек.

- ▶ Кроме набора *Clavularia FP cloning set* для проведения практикума необходимы другие реактивы, список которых представлен в руководстве для практикума и на странице сайта: <https://evrogen.ru/products/practicum>.

Состав

Компонент	Кол-во	Комментарии
Фрагмент коралла <i>Clavularia</i> sp. в фиксаторе IntactRNA (кат. # BCO31, Евrogen)	2–3 шт.	Фрагменты коралла для выделения РНК.
Праймер Dir1-NGH (10 мкМ) 5'-GAAGGAAATGTAAACGGGCA-3'	50 мкл	Ген-специфический праймер для первого раунда 3'-RACE.
Праймер Dir2-NFP (10 мкМ) 5'-GTTTTGATGGGATGAACTTCC-3'	50 мкл	Ген-специфический праймер для второго раунда 3'-RACE.
Праймер Dir3-WEP (10 мкМ) 5'-AAAACCTTTGAAGTGGGAACC-3'	50 мкл	Ген-специфический праймер для третьего раунда 3'-RACE.
25X Смесь праймеров Step-out primer mix1: – Праймер Long1, 0.25 мкМ 5'-GTAATACGACTCACTATAGGGC AAGCAGT GGTATCAACGCAGAGT-3' – Праймер Short1, 2.5 мкМ 5'-GTAATACGACTCACTATAGGGC-3'	200 мкл	Смесь праймеров для быстрой амплификации 5' и 3'-концевых фрагментов целевых транскриптов с кДНК-матрицы (RACE).
25X Смесь праймеров Step-out primer mix2: – Праймер Long2, 0.25 мкМ 5'-TGTAGCGTGAAGACGACAGAAGT AATACGACTCACTATAGGGC-3' – Праймер Short2, 2.5 мкМ 5'-TGTAGCGTGAAGACGACAGAA-3'	200 мкл	Смесь праймеров для быстрой амплификации 5' и 3'-концевых фрагментов целевых транскриптов с кДНК-матрицы (RACE).
25X Смесь праймеров Step-out primer mix3: – Праймер Long3, 0.25 мкМ 5'-AGCAGCGAACTCAGTACAACATG TAGCGTGAAGACGACAGAA-3' – Праймер Short3, 2.5 мкМ 5'-AGCAGCGAACTCAGTACAACA-3'	200 мкл	Смесь праймеров для быстрой амплификации 5' и 3'-концевых фрагментов целевых транскриптов с кДНК-матрицы (RACE).
Праймер <i>ClavFP-Dir-BamHI</i> (10 мкМ) 5'-TCACGGATCCAAAGTGTAAATTTGTGTT CTGCCTGTC-3'	50 мкл	Праймер для клонирования полноразмерного гена флуоресцентного белка.
Праймер <i>ClavFP-Rev-HindIII</i> (10 мкМ) 5'-TGTC AAGCTTAGCGCTGACTTGGCA GCAAAG-3'	50 мкл	Праймер для клонирования полноразмерного гена флуоресцентного белка.
Контрольная кДНК <i>Clavularia</i> (в 5 мМ Трис-HCl, pH 8.0)	10 мкл	Амплифицированная очищенная кДНК (21 цикл), из коралла <i>Clavularia</i> . Можно использовать для I раунда RACE и для амплификации полноразмерного гена флуоресцентного белка.
Контрольная РНК <i>Clavularia</i> (0.2 мг/мл), водный раствор	10 мкл	Очищенная суммарная РНК, выделенная из коралла <i>Clavularia</i> . Можно использовать для синтеза кДНК.

Компонент	Кол-во	Комментарии
Контрольная плаزمида pQE-30-FP с геном флуоресцентного белка (10 нг/мкл)	15 мкл	Плазмида pQE-30, несущая ген флуоресцентного белка из коралла <i>Clavularia</i> . Может быть использована для трансформации бактерий.
Вектор для клонирования pQE-30 (100 нг/мкл)	30 мкл	Плазмида pQE-30 (Qiagen) с N-концевым 6xHis доменом. Предназначена для клонирования гена флуоресцентного белка с целью экспрессии в бактериальной системе.
Смесь праймеров Screen-pQE (10 мкМ каждого) 5'-CACACAGAATTCATTAAGAGGA-3' 5'-CAGATGGAGTTCTGAGGTCAT-3'	50 мкл	Праймеры на последовательность вектора pQE-30 для отбора рекомбинантных клонов. Температура отжига 60 °С.
Вода деионизированная, свободная от нуклеаз	1.5 мл	Деионизированная вода высокой очистки для подготовки реакционных смесей для ПЦР.
Пестик для гомогенизации образцов	2 шт.	Пестик для пробирок 1.5 мл.

Условия хранения и транспортировки

Хранение и транспортировка: –20 °С.

Срок годности: 12 месяцев с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

Наборы и сервисы Евроген

Выделение и очистка нуклеиновых кислот [Н](#)▶▶▶

Реактивы для ПЦР и ПЦР-РВ [Н](#)▶▶▶

Синтез и амплификация кДНК [Н](#)▶▶▶

Клонирование ДНК [Н](#)▶▶▶ [С](#)▶▶▶

Выявление контаминации микоплазмой [Н](#)▶▶▶

Оценка ДНК [Н](#)▶▶▶

Нормализация кДНК [Н](#)▶▶▶

Практикум по геной инженерии [Н](#)▶▶▶

Генотипирование [Н](#)▶▶▶

Синтез олигонуклеотидов и зондов [С](#)▶▶▶

Секвенирование по Сэнгеру [С](#)▶▶▶

Синтез генов [С](#)▶▶▶

Сайт-направленный мутагенез [С](#)▶▶▶

[Н](#)▶▶▶ – ссылка на страницу
НАБОРА

[С](#)▶▶▶ – ссылка на страницу
СЕРВИСА

Консультация по продуктам: support@evrogen.ru

Подробную информацию о наших наборах и сервисах
можно получить на сайте www.evrogen.ru

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