

## KTNmix-HS

Версия 04 от 13 ноября 2019 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 | <b>PK157S</b> | 0.5 мл                  | 100                      |
|           | <b>PK157L</b> | 5.0 мл<br>(10 x 0.5 мл) | 1000                     |

**Хранение и транспортировка:** при -20 °С.

**Срок хранения:** при соблюдении условий хранения и транспортировки 1 год с момента поставки.

**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 дезоксинуклеозидтрифосфата 0.12 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 Encyclo полимеразы (кат. # PK002S/L)
- KTNmix-HS нельзя использовать для технологии TaqMan, где разгорание зонда происходит 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         | T <sub>m</sub> (50-68 °С) | 10-30 сек             |
| Элонгация                   |               | 68-72 °С                  | 30-60 сек на 1 т.п.о. |

T<sub>m</sub> – оптимальная температура отжига, определяется структурой праймеров и варьирует от 50 до 68 °С. Для приблизительного расчета температуры отжига (T<sub>m</sub>) можно воспользоваться формулой: T<sub>m</sub> (°С) = 2 x (A+T) + 4 x (G+C).

4. После проведения ПЦР проанализируйте продукты амплификации электрофорезом. Пробы наносятся на гель без добавления буфера для нанесения.

**Примечание:** Рекомендуем использовать 1X TAE буфер (кат. ## PB022, PB122) с бромистым этидием, если планируется очистка ДНК из геля для проведения ферментативных реакций. 1X TBE буфер (кат. ## PB031, PB131) можно использовать, если дальнейшая работа с нанесенными на гель образцами не предполагается.

## 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. 15

Тел.: +7 (495) 988-4083

Факс: +7 (495) 988-4085

www.evrogen.ru

order@evrogen.ru