

5X KTNmix-HS

Версия 05 от 22 июля 2022 г.

KTN-полимераза — модифицированная Taq-полимераза, у которой отсутствует 5' → 3' экзонуклеазная активность.

Реакционная смесь 5X 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). Возможно применение с целью генотипирования.

В состав 5X 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
5X KTNmix-HS	PK157S	0.5 мл	100
	PK157L	5.0 мл (10 x 0.5 мл)	1 000

Хранение и транспортировка: при –20 °С.

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

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 °С, 5–10 с).
- В итоговой реакционной смеси концентрация ионов магния 3 мМ, каждого дезоксирибонуклеозидтрифосфата 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).
- 5X 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 5X 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
Вода деионизированная, свободная от нуклеаз	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 с
Отжиг	до 50	T _m (50–68 °С)	10–30 с
Элонгация		68–72 °С	30–60 сек на 1 т.п.о.

T_m — оптимальная температура отжига, определяется структурой праймеров и варьирует от 50 до 68 °С. Для приблизительного расчета температуры отжига (T_m) можно воспользоваться формулой: $T_m (°C) = 2 \times (A+T) + 4 \times (G+C)$.

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

Примечание: Рекомендуем использовать 1X TAE буфер (кат. ## RB022, RB122) с бромистым этидием, если планируется очистка ДНК из геля для проведения ферментативных реакций. 1X TBE буфер (кат. ## RB031, RB131) можно использовать, если дальнейшая работа с нанесенными на гель образцами не предполагается.

Наборы и сервисы Евроген

  – ссылка на страницу НАБОРА

Выделение и очистка нуклеиновых кислот  

Реактивы для ПЦР и ПЦР-РВ  

Синтез и амплификация кДНК    

Клонирование ДНК    

Выявление контаминации микоплазмой  

Оценка ДНК  

Нормализация кДНК    

Практикум по генной инженерии  

Генотипирование  

Синтез олигонуклеотидов и зондов  

Секвенирование по Сэнгеру  

NGS секвенирование  

Синтез генов  

Сайт-направленный мутагенез  

Синтез органических соединений  

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