

5X ScreenMix-HS

Версия 2 от 31 мая 2022 г.

Окрашенная реакционная смесь 5X ScreenMix-HS предназначена для проведения ПЦР анализа большого количества образцов. В состав 5X ScreenMix-HS входят все необходимые компоненты ПЦР: высокопроцессивная Taq ДНК полимеразы со специфическими моноклональными антителами, смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов, Mg^{2+} , ПЦР буфер, красители.

Для постановки реакции ПЦР в смесь требуется добавить только праймеры, матрицу ДНК и воду.

Продукт	Кат. #	Объем смеси	Кол-во реакций по 25 мкл
5X ScreenMix-HS	PK143S	0.5 мл	100
	PK143L	10 x 0.5 мл	1 000

Хранение и транспортировка: при $-20^{\circ}C$.

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 полимеразы

- 5' → 3' полимеразная активность.
- 5' → 3' экзонуклеазная активность.
- Быстрый горячий старт в первом цикле денатурации ($95^{\circ}C$, 5–10 с).

Свойства реакционной смеси

- В 1X реакционной смеси концентрация магния 3 mM, концентрация каждого дезоксинуклеозидтрифосфата 0.12 mM;
- Смесь оптимизирована для специфичной работы Taq ДНК полимеразы, длительного хранения, многократного замораживания-размораживания;
- Смесь содержит красный и желтый красители, не влияющие на работу полимеразы, и компоненты, увеличивающие плотность пробы для удобства нанесения на гель.

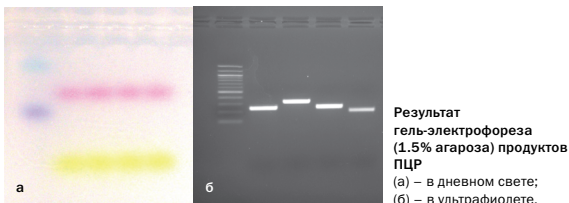
Примечание: В 1% агарозном геле с 1X TAE буфером электрофоретическая подвижность красного красителя соответствует фрагменту ДНК размером 1 000 п.н., желтый краситель мигрирует с фронтом на уровне фрагментов 20–30 п.н.

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).
- Автоматический горячий старт повышает специфичность реакции.
- Облегчается стадия нанесения на гель. Благодаря высокой плотности смеси добавления в пробу буфера для нанесения не требуется.
- Возможность клонирования продуктов ПЦР в Т-вектор (например, рAL2-Т вектор, кат. # TA002) за счет выступающих на концах амплифицированных фрагментов ДНК дезоксиаденозиновых остатков.

Ограничения к использованию

- Не рекомендуется использовать для ампликонов длиной свыше 3 т.п.о. Для амплификации длинных фрагментов ДНК рекомендуется использовать набор Encyclo Plus PCR kit (кат. # PK101).
- Не рекомендуется использовать для амплификации сложных смесей ДНК и для высокоточной амплификации фрагментов ДНК. Для решения таких задач рекомендуется использовать набор Encyclo Plus PCR kit (кат. # PK101) и Tersus Plus PCR kit (кат. # PK221), соответственно.
- Из-за содержания красителя смесь ScreenMix-HS не может использоваться для ПЦР в реальном времени и других приложений, требующих измерения оптического поглощения или флуоресценции пробы. Для таких приложений следует использовать смесь 5X qPCRmix-HS, 5X qPCRmix-HS SYBR или 5X qPCRmix-HS SYBR+ROX.



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	—
5X ScreenMix-HS	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

Примечание: в случае использования амплификатора без греющейся крышки, добавьте в каждую пробирку каплю минерального масла.

3. Режим амплификации





Стадия	Кол-во циклов	Температура	Время инкубации
Предварительная денатурация	1	95 °С	5 мин
Денатурация		94–95 °С	15–30 с
Отжиг	до 40	T _m (50–68 °С)	15–30 с
Элонгация		68–72 °С	30–60 с 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 геной 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