

ScreenMix

Версия 02 от 13 ноября 2019 г.

5х окрашенная реакционная смесь ScreenMix предназначена для проведения ПЦР анализа большого количества образцов. В состав ScreenMix входят все необходимые компоненты ПЦР (высокопроцессивная Taq ДНК-полимераза, 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
ScreenMix	PK041S	0.5 мл	100
	PK041L	10 x 0.5 мл	1000

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

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 полимеразы

- 5'>3' полимеразная активность
- 5'>3' экзонуклеазная активность

Свойства реакционной смеси

- В 1х реакционной смеси концентрация магния 2 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.

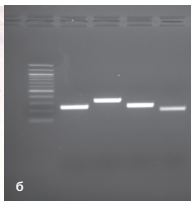
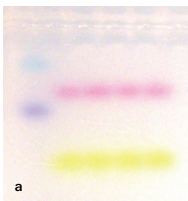
Примечание: В 1% агарозном геле с 1X TAE буфером электрофоретическая подвижность красного красителя соответствует фрагменту ДНК размером 1000 п.н., желтый краситель мигрирует с фронтом на уровне фрагментов 20-30 п.н.

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).
- 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.# PK121), соответственно.
- Из-за содержания красителя смесь ScreenMix не может использоваться для ПЦР в реальном времени и других приложений, требующих измерения оптического поглощения или флуоресценции пробы. Для таких приложений следует использовать смесь qPCRmix-HS и qPCRmix-HS SYBR.



Результат
гель-электрофореза
(1,5% агароза) продуктов
ПЦР, полученных с
использованием
ScreenMix смеси.

(а) - в дневном свете;
(б) - в ультрафиолете.

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	-
ScreenMix	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.

Примечание: для повышения специфичности ПЦР во время смешивания компонентов рекомендуется охлаждение на льду реагентов и пробирок. Готовую реакционную смесь следует быстро переместить в предварительно прогретый до 95°C амплификатор.

3. Режим амплификации

Стадия	Кол-во циклов	Температура	Время инкубации
Предварительная денатурация	1	95°C	5 мин
Денатурация		94-95°C	15 - 30 сек
Отжиг	до 40	T _m (50-68°C)	15 - 30 сек
Элонгация		68 - 72°C	30 - 60 сек на 1 т.п.о.

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).

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

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