

## 5X ScreenMix

Версия 03 от 5 мая 2022 г.

Окрашенная реакционная смесь 5X ScreenMix предназначена для проведения ПЦР анализа большого количества образцов. В состав 5X 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
5X ScreenMix	PK041S	0.5 мл	100
	PK041L	10 x 0.5 мл	1 000

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

**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.

### Свойства реакционной смеси

- В 1X 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.

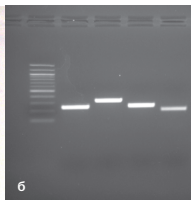
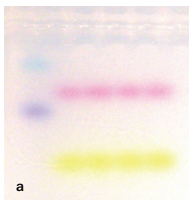
**Примечание:** В 1% агарозном геле с 1X TAE буфером электрофоретическая подвижность красного красителя соответствует фрагменту ДНК размером 1 000 п.н., желтый краситель мигрирует с фронтом на уровне фрагментов 20–30 п.н.

## 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).
- 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. # ТА002) 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. # РК101).
- 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. # РК101) и Tersus Plus PCR kit (кат. # РК121), соответственно.
- Из-за содержания красителя смесь 5X 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 5X qPCRmix-HS и 5X qPCRmix-HS SYBR.



**Результат**  
гель-электрофореза  
(1,5% агароза) продуктов  
ПЦР, полученных с  
использованием 5X  
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
Вода деионизированная, свободная от нуклеаз	до 25 мкл	—
5X 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 °С амплификатор.

### 3. Режим амплификации





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





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

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](mailto:support@evrogen.ru)

Подробную информацию о наших наборах и сервисах  
можно получить на сайте [www.evrogen.ru](http://www.evrogen.ru)

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