

5X qPCRMix-HS HighROX

Версия 2 от 18 июля 2022 г.

Реакционная смесь 5X qPCRMix-HS HighROX предназначена для постановки ПЦР в присутствии референсного красителя ROX, и позволяет получать результаты со значительным превышением уровня сигнала над фоновой флуоресценцией и низким порогом насыщения реакции (cycle threshold, Ct).

В состав 5X qPCRMix-HS HighROX входят следующие компоненты: высокопроцессивная HS Taq ДНК полимеразы, референсный краситель ROX, смесь dNTP, Mg²⁺, ПЦР буфер.

Для постановки ПЦР в смесь требуется добавить праймеры, матрицу ДНК, воду и краситель/зонд для детекции продукта.

5X qPCRMix-HS HighROX подходит для Real-Time амплификаторов, требующих высокой концентрации красителя ROX в реакции (например, StepOne, StepOne Plus).

Продукт	Кат. #	Объем смеси	Кол-во реакций по 25 мкл
5X qPCRMix-HS	PK153S	0.5 мл	100
HighROX	PK153L	10 x 0.5 мл	1 000

Хранение и транспортировка: при –20 °С, в темноте; не более 10 циклов замораживания-размораживания.

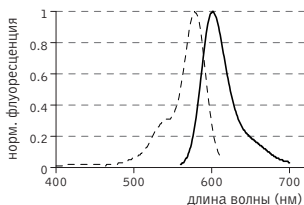
Срок годности: 12 месяцев с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

Свойства полимеразы

- 5' → 3' полимеразная активность.
- 5' → 3' экзонуклеазная активность.
- Быстрый горячий старт в первом цикле денатурации (95 °С, 5–10 с).

Свойства реакционной смеси

- В 1X реакционной смеси концентрация магния 3 мМ, концентрация каждого дезоксирибонуклеозидтрифосфата 0.12 мМ.
- Максимумы возбуждения и флуоресценции красителя ROX в буферной системе смеси — 578 нм и 600 нм, соответственно.



Спектр возбуждения и флуоресценции для красителя ROX в реакционной смеси, pH 8.0. Пунктирная линия — возбуждение, сплошная — флуоресценция.

Преимущества использования

- Краситель ROX позволяет нормировать сигнал репортерной флуоресценции.
- Позволяет получать результаты со значительным превышением уровня сигнала над фоновой флуоресценцией и низким порогом насыщения реакции (cycle threshold, Ct).
- 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.

Ограничения к использованию

- Не рекомендуется использовать для прямой амплификации с крови.
- 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).

Протокол выполнения амплификации

1. Разморозьте реакционную смесь и тщательно перемешайте. При замешивании не оставляйте надолго смесь на свету и при комнатной температуре.
2. Смешайте компоненты реакции в следующей последовательности:





Компонент	Количество на 25 мкл реакции	Конечная концентрация
Вода деионизированная, свободная от нуклеаз	до 25 мкл	—
5X qPCRMix-HS HighROX	5 мкл	1X
ПЦР праймер 1	переменное	0.2–0.4 мкМ
ПЦР праймер 2	переменное	0.2–0.4 мкМ
Интеркалирующий краситель или 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	10–30 с

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 (°С) = 2 x (A+T) + 4 x (G+C).







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