

## 5X qPCRMix-HS LowROX

Версия 2 от 22 июля 2022 г.

Реакционная смесь 5X qPCRMix-HS LowROX 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 ROX входят следующие компоненты: высокопроцессивная HS Taq ДНК полимеразы, референсный краситель ROX, смесь dNTP, Mg<sup>2+</sup>, ПЦР буфер. Для постановки ПЦР в смесь требуется добавить праймеры, матрицу ДНК, воду и краситель/зонд для детекции продукта.

5X qPCRMix-HS LowROX подходит для Real-Time амплификаторов, требующих низкой концентрации красителя ROX в реакции (например, ABI 7500).

Продукт	Кат. #	Объем смеси	Кол-во реакций по 25 мкл
5X qPCRMix-HS	<b>PK154S</b>	0.5 мл	100
LowROX	<b>PK154L</b>	10 x 0.5 мл	1 000

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

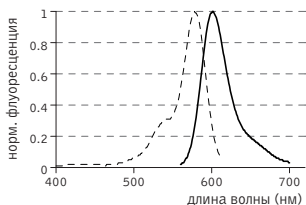
**Срок годности:** 12 месяцев с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

### 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 LowROX	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 <sub>m</sub> (50–68 °С)	10–30 с
Элонгация		68–72 °С	10–30 с

T<sub>m</sub> — оптимальная температура отжига определяется структурой праймеров и варьирует от 50 до 68 °С. Для приблизительного расчета температуры отжига (T<sub>m</sub>) можно воспользоваться формулой: T<sub>m</sub> (°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 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](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)