

5X qPCRMix-HS SYBR+HighROX

Версия 3 от 18 июля 2022 г.

Реакционная смесь 5X qPCRMix-HS SYBR+HighROX оптимизирована для постановки ПЦР с SYBR Green I 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 SYBR+HighROX входят все необходимые компоненты для ПЦР: HS Taq ДНК полимеразы, интеркалирующий краситель SYBR Green I, референсный краситель ROX, смесь dNTP, Mg²⁺, ПЦР буфер. Для постановки ПЦР в смесь требуется добавить праймеры, ДНК и воду.

5X qPCRMix-HS SYBR+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	PK155S	0.5 мл	100
SYBR+HighROX	PK155L	10 x 0.5 мл	1 000

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

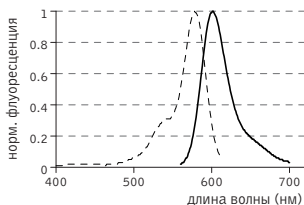
Срок годности: 12 месяцев с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

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.
- Смесь оптимизирована для специфичной работы Taq ДНК полимеразы, длительного хранения, многократного замораживания-размораживания.
- 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 с значительным превышением уровня сигнала над фоновой флуоресценцией (сигнал/фон), 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 SYBR+HighROX	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





3. Режим амплификации

Стадия	Кол-во циклов	Температура	Время инкубации
Предварительная денатурация	1	95 °С	5 мин
Денатурация		94–95 °С	10–30 сек
Отжиг	до 50	Tm (50–68 °С)	10–30 сек
Элонгация		68–72 °С	10–30 сек

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









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

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