

## qPCRMix-HS SYBR+ROX

5x реакционная смесь qPCRMix-HS SYBR+ROX оптимизирована для постановки ПЦП 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 qPCRMix-HS SYBR+ROX входят все необходимые компоненты для ПЦП (Taq ДНК-полимераза с "горячим стартом", интеркалирующий краситель SYBR Green I, референсный краситель ROX, смесь нуклеотидтрифосфатов, Mg<sup>2+</sup>, ПЦП буфер). Для постановки ПЦП в смесь требуется добавить праймеры, матрицу ДНК и воду.

qPCRMix-HS SYBR+ROX подходит для real-time амплификаторов, имеющих канал для регистрации красителя ROX (ABI, Stratagene и др.).

Продукт	Кат. #	Объем смеси	Кол-во реакций по 25 мкл
qPCRMix-HS SYBR+ROX	<b>PK051</b>	0.5 мл	100
	<b>PK052</b>	10 x 0.5 мл	1000
	<b>PKT51*</b>	0.1 мл	20

\* Тестовый образец, не предназначен для продажи.

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

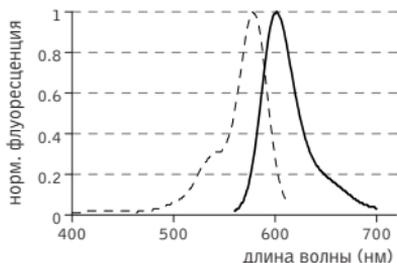
**Срок хранения:** при соблюдении условий хранения и транспортировки 1 год.

### Свойства полимеразы

- 5'>3' полимеразная активность
- 5'>3' экзонуклеазная активность
- "горячий старт" в первом цикле денатурации (2-3 мин, 95°C)

### Свойства реакционной смеси

- В 1x реакционной смеси концентрация магния 3 mM, концентрация каждого нуклеотидтрифосфата 0.2 mM;
- 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);
- "Горячий старт" ПЦР 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 PCR kit (кат.# PK001).
- Смеси, содержащие краситель ROX, не рекомендуется использовать на приборах LightCycler®, Roche, США.

## 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
Стерильная вода	до 25 мкл	-
qPCRMix-HS SYBR+ROX	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°C	5 мин
Денатурация		94-95°C	10 - 30 сек
Отжиг	до 50	T <sub>m</sub> (50-68°C)	10 - 30 сек
Элонгация		68 - 72°C	10 - 30 сек

T<sub>m</sub> - оптимальная температура отжига определяется структурой праймеров и варьирует от 50 до 68°C. Для приблизительного расчета температуры отжига (T<sub>m</sub>) можно воспользоваться формулой:  $T_m (^{\circ}\text{C}) = 2 \times (A+T) + 4 \times (G+C)$ .

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