5X qPCRmix-HS (UDG)

Кат. ## PK245S, PK245L

Версия 3 от 13 октября 2026 г.

Реакционная смесь 5X qPCRmix-HS (UDG) предназначена для ПЦР и ПЦР-РВ.

5X qPCRmix-HS (UDG) представляет собой смесь рекомбинантной Taq ДНК-полимеразы (получена из штамма *E. coli*, экспрессирующего ген *polA* термостабильной бактерии *Thermus aquaticus* YT1), Урацил-ДНК-гликозилазы (UDG), специфических моноклональных антител к полимеразе, dATP, dCTP и dGTP (0.6 мМ каждого), dTTP и dUTP (0.3 мМ каждого), Mg^{2+} (15 мМ) и буфера для ПЦР. Для проведения ПЦР в реакцию требуется добавить только праймеры, интеркалирующий краситель или зонды (опционально), воду и ДНК.

Входящая в состав UDG разрушает ПЦР-продукт, содержащий dUTP, что помогает предотвратить кросс-контаминацию, не влияя на эффективность ПЦР и способы детекции результатов (с использованием интеркалирующих красителей, TaqMan зондов или гель-электрофорезом).

Только для использования в научно-исследовательских целях.

Состав

Компонент	PK245S 100 реакций	PK245L 1 000 реакций
5X qPCRmix-HS (UDG)	0.5 мл	5 мл (10 x 0.5 мл)

Условия хранения и транспортировки

Хранение и транспортировка: –20 °C.
Минимизируйте циклы замораживания/размораживания, рекомендуемое количество циклов: до 20.
Срок годности: 12 месяцев с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

Преимущества

Использование 5X qPCRmix-HS (UDG) позволяет:

– предотвращать контаминацию ранее амплифицированными ПЦР-продуктами, содержащими урацил;
– сократить время на подготовку реакции;
– снизить вероятность контаминации при смешивании компонентов;
– стандартизировать условия постановки однотипных реакций (снижается погрешность при смешивании компонентов ПЦР).

Область применения

- Амплификация ДНК.
- ПЦР-РВ с TaqMan-зондами.
- ПЦР-РВ с интеркалирующими красителями (SYBR Green I и др.).
- ПЦР-скрининг.
- Мультиплексная ПЦР.

Основные характеристики

- Быстрый «горячий старт» в первом цикле денатурации.
- Температурный оптимум активности Taq-полимеразы: 70–74 °С.
- 5´→3´ экзонуклеазная активность.
- Отсутствует 3´→5´ экзонуклеазная активность (корректирующая).
- Длина амплифицируемых фрагментов до 3 т.п.о.
- Возможность клонирования продуктов ПЦР в ТА-вектор.
- Температурный оптимум активности UDG: 37 °С.
- Условия инактивации UDG: не менее 10 минут при 95 °С.

Ограничения к использованию

- Если планируется очистка ПЦР-продукта из реакционной смеси, рекомендуем проводить ее сразу после амплификации или заморозить продукт сразу после прохождения ПЦР до начала очистки. Это необходимо, чтобы избежать деградации ПЦР-продукта из-за остаточной активности UDG.
- Для амплификации длинных фрагментов ДНК (свыше 3 т.п.о.) рекомендуется использовать Encyclo полимеразу (кат. ## PK002S/L, PK101, Евроген).
- Для высокоточной амплификации фрагментов ДНК рекомендуется использовать Tersus полимеразу (кат. ## PK123S/L, PK221, Евроген).

Протокол

При постановке ПЦР соблюдайте зонирование помещений. Разделяйте зоны для приготовления реакционной смеси, внесения ДНК-матрицы, проведения ПЦР и анализа ПЦР-продукта.

1. Разморозьте при комнатной температуре все компоненты для ПЦР. Перемешайте их содержимое на вортексе, не допуская образования пены, сбросьте капли кратким центрифугированием.
2. Приготовьте реакционную смесь:

– рекомендуемый объем реакции — 25 мкл;

– предварительно рассчитайте количество ДНК-матрицы (см. п. 5).

Компонент	Количество для реакции объемом 25 мкл
Вода деионизированная, свободная от нуклеаз	до 25 мкл (необходимо учесть объем ДНК-матрицы)
Праймер 1 (10 мкМ)	0.5–1.25 мкл
Праймер 2 (10 мкМ)	0.5–1.25 мкл
Интеркалирующий краситель или зонд (опционально)	0.5–1.25 мкл
5X qPCRmix-HS (UDG)	5 мкл
ДНК-матрица	1–100 нг на реакцию

3. Аккуратно перемешайте реакционную смесь на вортексе, сбросьте капли кратким центрифугированием.
4. Разнесите реакционную смесь в пробирки для ПЦР.
5. Внесите необходимое количество ДНК-матрицы в пробирки для ПЦР. Оптимальная концентрация матрицы в реакции зависит от источника ДНК, степени ее очистки и длины ампликона. Для амплификации длинных фрагментов требуется больше матрицы, однако слишком высокая концентрация ДНК-матрицы в реакционной смеси может ингибировать ПЦР и приводить к неспецифической амплификации.
6. При использовании амплификатора без нагревающейся крышки, наслоите поверх реакционной смеси минеральное масло.

7. Установите пробирки в амплификатор. Запустите программу, следуя рекомендациям:

Обработка UDG	37 °C	10 мин
Инактивация UDG и предварительная денатурация	95 °C	10 мин
Циклы ПЦР (до 50 циклов)	94–95 °C	10–30 с
	Tm*	10–30 с
	68–72 °C	30–60 с на 1 т.п.о.

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

- Рекомендуется минимизировать количество циклов ПЦР, так как их избыточное количество может привести к образованию неспецифических ПЦР-продуктов.
- Скорость элонгации 1 т.п.о. в минуту. Режим амплификации может отличаться для разных моделей термоциклеров.

8. Полученные ПЦР-продукты рекомендуется заморозить при –20 °C до проведения дальнейших анализов (например, методом электрофореза) во избежание их деградации из-за остаточной активности UDG.

Возможно приобрести дополнительно

Кат. #	Продукт	Количество
PB020	4X Gel Loading Dye, Blue буфер	7.5 мл (5 x 1.5 мл)
PB025S	50X SYBR Green I для ПЦР-РВ	200 р-ций по 25 мкл
PB025M		1 000 р-ций по 25 мкл
PB207S	Вода деионизированная, свободная от нуклеаз	7.5 мл (5 x 1.5 мл)

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