

## qPCRMix-HS

5x реакционная смесь qPCRMix-HS предназначена для высокоспецифичной амплификации ДНК, в частности при анализе большого количества образцов. Возможно применение qPCRMix-HS для ПЦР в реальном времени с флуоресцентными зондами (TaqMan пробы) или интеркалирующими красителями (SYBR Green, EVA Green).

В состав qPCRMix-HS входят все необходимые компоненты ПЦР: высокопроцессивная Taq ДНК полимеразы со специфическими моноклональными антителами, смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов,  $Mg^{2+}$ , ПЦР буфер. Для постановки реакции ПЦР в смесь требуется добавить только праймеры, матрицу ДНК и воду. При использовании для ПЦР в реальном времени в смесь добавляются компоненты для детекции ДНК в зависимости от применяемого метода.

Продукт	Кат. #	Объем смеси	Кол-во реакций по 25 мкл
qPCRMix-HS	<b>PK145S</b>	0.5 мл	100
	<b>PK145L</b>	10 x 0.5 мл	1000

**Хранение и транспортировка:** при  $-20^{\circ}C$ .

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

**Использование:** не более 50 циклов замораживания-размораживания.

Перед использованием разморозить при комнатной температуре и хорошо перемешать переворачиванием пробирки без образования пены.

### **Свойства полимеразы**

- 5'>3' полимеразная активность
- 5'>3' экзонуклеазная активность
- Быстрый горячий старт в первом цикле денатурации (95°C, 5-10 сек)

### **Свойства реакционной смеси**

- В 1x реакционной смеси концентрация магния 3 mM, концентрация каждого дезоксинуклеозидтрифосфата 0.12 mM;
- Смесь оптимизирована для специфичной работы Taq ДНК полимеразы, длительного хранения, многократного замораживания-размораживания.

### **Преимущества использования**

- 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 ампликонов длиной свыше 3 т.п.о. Для амплификации длинных фрагментов ДНК рекомендуется использовать набор Encyclo Plus PCR kit (кат. #PK101).
- Не рекомендуется использовать для амплификации сложных смесей ДНК и для высокоточной амплификации фрагментов ДНК. Для решения таких задач рекомендуется использовать набор Encyclo Plus PCR kit (кат. #PK101) и Tersus Plus PCR kit (кат. #PK121), соответственно.

## Протокол выполнения амплификации

1. Разморозьте реакционную смесь и тщательно перемешайте.
2. Смешайте компоненты реакции в следующей последовательности:

Компонент	Количество на 25 мкл реакции	Конечная концентрация
Стерильная вода	до 25 мкл	-
qPCRMix-HS	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°C	5 мин
Денатурация		94-95°C	10 - 30 сек
Отжиг	до 50	Tm (50-68°C)	10 - 30 сек
Элонгация		68 - 72°C	30 - 60 сек 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:  $Tm (^{\circ}C) = 2 \times (A+T) + 4 \times (G+C)$ .

4. После проведения ПЦР проанализируйте продукты амплификации электрофорезом. Пробы наносятся на гель без добавления буфера для нанесения.

**Примечание:** Рекомендуем использовать 1X TAE буфер (кат. ## RB022, RB122) с бромистым этидием, если планируется очистка ДНК из геля для проведения ферментативных реакций. 1X TBE буфер (кат. ## RB031, RB131) можно использовать, если дальнейшая работа с нанесенными на гель образцами не предполагается.

## Продукты и услуги компании Евроген

### Молекулярная биология

Наборы для выделения и очистки нуклеиновых кислот **P** >>>

Маркеры длин ДНК **P** >>>

Реактивы для ПЦР и ПЦР-РВ **P** >>>

Приготовление библиотек кДНК **P** >>> **S** >>>

Синтез кДНК и RACE **P** >>> **S** >>>

Клонирование ДНК **P** >>> **S** >>>

Нормализация кДНК **P** >>> **S** >>>

Практикум по геной инженерии **P** >>>

Синтез олигонуклеотидов и зондов **S** >>>

Секвенирование по Сэнгеру **S** >>>

Секвенирование следующего поколения (NGS) **S** >>>

Синтез генов **S** >>>

Сайт-направленный мутагенез **S** >>>

*Техническая поддержка: [customer-support@evrogen.ru](mailto:customer-support@evrogen.ru)*

**P** >>> – ссылка на страницу ПРОДУКТА

**S** >>> – ссылка на страницу УСЛУГИ

### Клеточная биология

Выявление микоплазменной контаминации **P** >>>

Флуоресцентные белки **P** >>>

Генетически-кодируемые сенсоры и фотосенсибилизаторы **P** >>>

Антитела против флуоресцентных белков **P** >>>

Временная трансфекция клеточных линий **S** >>>

Конструирование и сборка лентивирусных частиц **S** >>>

Создание стабильно трансфицированных клеточных линий **S** >>>

*Техническая поддержка: [customer-support@evrogen.ru](mailto:customer-support@evrogen.ru)*

### Молекулярно-генетические исследования

Исследования в области молекулярной онкологии и генетики наследственных заболеваний **S** >>>

*Техническая поддержка: [oncology@evrogen.ru](mailto:oncology@evrogen.ru)*

Евроген

Москва 117997

ул. Миклухо-Маклая 16/10, корп. 15

Тел.: +7 (495) 988-4083

Факс: +7 (495) 988-4085

[www.evrogen.ru](http://www.evrogen.ru)

[order@evrogen.ru](mailto:order@evrogen.ru)