

5X qPCRMix-HS

Версия 2 от 30 мая 2022 г.

Реакционная смесь 5X qPCRMix-HS предназначена для высокоспецифичной амплификации ДНК, в том числе для генотипирования. Возможно применение 5X qPCRMix-HS для ПЦР в режиме реального времени с использованием флуоресцентных зондов (TaqMan пробы) или для проведения ПЦР с интеркалирующими красителями (SYBR Green, EVA Green).

В состав 5X qPCRMix-HS входят все необходимые компоненты ПЦР: высокопроцессивная Taq ДНК полимеразы со специфическими моноклональными антителами, смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов, Mg²⁺, 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
5X qPCRMix-HS	PK145S	0.5 мл	100
	PK145L	10 x 0.5 мл	1 000

Хранение и транспортировка: при –20 °С.

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

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 °С, 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. # РК101).
- 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. # РК101) и Tersus Plus PCR kit (кат. # РК221), 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
Вода деионизированная, свободная от нуклеаз	до 25 мкл	–
5X 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	T _m (50–68 °C)	10–30 сек
Элонгация		68–72 °C	30–60 сек на 1 т.п.о.



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

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

Примечание: Для анализа ПЦР-продуктов и их очистки рекомендуется использовать агарозные гели на 1X TAE буфере (кат. ## PB022, PB122) с бромистым этидием.





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 генной 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