



Общество с ограниченной ответственностью
«Биолабмикс»
ИНН 5408278957 КПП 540801001
630090, Новосибирская обл., г. Новосибирск,
ул. Инженерная, дом № 28
Tel/Fax: +7(383)363-51-91, Tel: +7(383)363-22-40
E-mail: sales@biolabmix.ru

БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Спец (2×)

Кат. номер МН011-200, МН011-1020

Описание

БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Спец (2×) предназначен для проведения ПЦР ДНК-матриц со сложной пространственной структурой или с GC-богатыми участками. Набор БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Спец (2×) содержит 2× реакционную смесь БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Спец (2×), 50 мМ MgCl₂ и стерильную воду. В состав реакционной смеси БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Спец (2×) входят все необходимые компоненты для проведения ПЦР (исключая ДНК-матрицу и праймеры):

- высокопроцессивная рекомбинантная HS-Тaq ДНК-полимераза;
- смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов;
- ПЦР-буфер;
- Mg²⁺.

Смесь оптимизирована для проведения эффективной и воспроизводимой ПЦР с “горячим стартом” на сложно-структурированных и/или GC-богатых ДНК-матрицах. В состав смеси входят добавки, повышающие время полужизни и процессивность HS-Тaq ДНК-полимеразы за счет повышения её стабильности во время ПЦР. БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Спец (2×) реакционная смесь содержит вещества, меняющие температуру отжига праймеров и характеристики плавления матрицы.

ДНК-полимераза, входящая в её состав, неактивна при комнатной температуре. Для её активации необходим прогрев реакционной смеси при 95 °С в течение 5 мин. Входящий в набор раствор MgCl₂ позволяет легко оптимизировать реакционную смесь под конкретную систему матрица-праймеры.

Представленная форма набора для проведения ПЦР экономит время и снижает вероятность контаминации за счет малого числа шагов пипетирования.

Состав набора

Каталожный номер	БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Спец (2×)	50 мМ MgCl ₂	Вода	Кол-во реакций по 50 мкл
МН011-200	4 × 1,25 мл	1 × 1 мл	4 × 1,25 мл	200
МН011-1020	17 × 1,5 мл	1 × 1,8 мл	2 × 1,8 мл	1020

Состав БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Спец (2*)

100 мМ Трис-НСl, рН 8,5 (при 25°С), 100 мМ КСl, 0,4 мМ каждого дезоксирибонуклеозидтрифосфата, 4 мМ MgCl₂, 0,06 ед. акт./мкл Таq ДНК-полимеразы, 0,2% Tween 20, стабилизаторы HS-Тaq ДНК-полимеразы.

Область применения

- ПЦР ДНК-матриц с GC-составом более 66%;
- ПЦР с "горячим стартом";
- наработка ПЦР-продуктов для ТА-клонирования;
- ОТ-ПЦР.

Свойства полимеразы

Рекомбинантная HS-Тaq ДНК-полимераза обладает 5'-3' ДНК-зависимой полимеразной активностью и 5'-3' экзонуклеазной активностью нативной Таq ДНК-полимеразы из *Thermus aquaticus*. Скорость продвижения Таq ДНК-полимеразы зависит от сложности ДНК-матрицы и составляет примерно 2 т.п.о./мин. Рекомбинантная HS-Тaq ДНК-полимераза идеально подходит для стандартной ПЦР с матрицы до 5 т.п.о.

Свойства реакционной смеси

- Смесь оптимизирована для специфичной работы HS-Тaq ДНК-полимеразы, длительного хранения (хранение БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Спец (2*) в течение 30 дней при комнатной температуре не снижает эффективность ПЦР), многократного замораживания-размораживания;
- Смесь содержит компоненты, увеличивающие плотность пробы для удобства работы с ней;
- Смесь не содержит веществ, мешающих проведению оптического контроля за ходом реакции по изменению флуоресценции пробы.

Преимущества использования

- Способен амплифицировать матрицы с GC-составом более 66%.
- Фермент с "горячим стартом" повышает специфичность, чувствительность и выход реакции.
- Для активации HS-Тaq ДНК-полимеразы требуется не более 5 мин.
- 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).
- Возможность ТА-клонирования продуктов ПЦР за счет выступающих на концах амплифицированных фрагментов ДНК дезоксиаденозиновых остатков.

Ограничения к использованию

Не рекомендуется использовать для ампликонов длиной свыше 5 т.п.о.

Протокол выполнения амплификации:

1. Разморозить реакционную смесь, осторожно и тщательно перемешать.
2. В тонкостенные пробирки для ПЦР добавить следующие компоненты из расчета объема одной реакционной смеси 50 мкл:

Компонент	Объем	Конечная концентрация
БиоМастер HS-Taq ПЦР-Спец (2×)	25	1×
Прямой праймер	переменный	0,1-600 нМ
Обратный праймер	переменный	0,1-600 нМ
ДНК-матрица	переменный	1 пг-1 мкг
Стерильная вода	До 50 мкл	

3. Осторожно перемешать и сбросить капли, используя центрифугу.

Примечание: в случае использования амплификатора без греющейся крышки, добавить в каждую пробирку каплю (25–35 мкл) минерального масла.

Примечание: Готовую реакционную смесь следует быстро переместить в предварительно прогретый до 95 °С амплификатор.

4. Провести ПЦР, используя рекомендованный режим:

Шаг	Температура, °С	Время инкубации	Количество циклов
Предварительная денатурация	95	5 мин	1
Денатурация	95	5-15 сек	
Отжиг	50-68 (Tm-5)	5-20 сек	25-50
Элонгация	72	0,5-1 мин/т.п.о.	
Финальная элонгация	72	5-15 мин	1

Tm - температура плавления дуплекса матрица/праймер определяется структурой праймеров. Для приблизительного расчета Tm можно воспользоваться формулой: $Tm (^{\circ}C) = 2 \times (A+T) + 4 \times (G+C)$.

Примечание: реакционная смесь содержит вещества, снижающие Tm на несколько градусов. Учитывайте это при подборе температуры отжига.

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

Примечание: для разделения продуктов реакции электрофорезом мы рекомендуем использовать 1× ТАЕ буфер с бромистым этидием.

Примечание: Подвижность красителей в 0.5-1.5% агарозном геле

Ксилен цианол	Бромфеноловый синий	Orange G	Тартразин
10000-4000 п.о.	500-400 п.о.	<100 п.о.	<20 п.о.

Условия хранения

Хранить в месте, защищенном от попадания света:
при +25 °С - 7 дней; при +4 °С - 4 месяца; при -20 °С - 18 месяцев;
не более 50 циклов замораживания-размораживания.

Условия транспортировки

Транспортируется в термоконтейнерах с охлаждающими элементами, допускается повышение температуры до температуры окружающей среды при транспортировке до 10 дней.