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
E-mail: sales@biolabmix.ru

Биолабмикс®

БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2×)

Кат. номер MHR020-400, MHR020-2040

Описание:

Набор БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2×) содержит 2× реакционную смесь БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX и стерильную воду. Реакционная смесь БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2×) предназначена для проведения количественной ПЦР в режиме реального времени с использованием флуоресцентно-меченых зондов на амплификаторах, поддерживающих нормализацию данных по флуоресцентному красителю ROX. В состав БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2×) входят все необходимые компоненты ПЦР (исключая ДНК-матрицу, праймеры и зонд):

- высокопроцессивная рекомбинантная HS-Taq ДНК-полимераза;
- смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов;
- ПЦР-буфер;
- Mg^{2+} (10 мМ);
- краситель ROX (525 нМ).

Смесь БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2×) оптимизирована для проведения эффективной и воспроизводимой ПЦР с “горячим стартом” в режиме реального времени с образцами геномной, плазмидной и вирусной ДНК. В состав смеси входят добавки, повышающие время полужизни и процессивность HS-Taq ДНК-полимеразы за счет повышения её стабильности в ходе ПЦР. Реакционная смесь БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2×) не содержит вещества, влияющие на температуры отжига праймеров и характеристики плавления матрицы.

ДНК-полимераза, входящая в состав смеси БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2×) неактивна при комнатной температуре. Для её активации необходим прогрев реакционной смеси при 95°C в течение 5 мин.
Смесь идеально подходит для амплификаторов, обеспечивающих нормализацию сигнала по пассивному референсному красителю ROX. Представленная форма набора для проведения ПЦР экономит время и снижает вероятность контаминации за счет малого числа шагов пипетирования.

Состав набора

Кат. №	БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2×)	Стерильная вода	Кол-во реакций по 25 мкл
MHR020-400	4 × 1.25 мл	4 × 1.25 мл	400
MHR020-2040	17 × 1.5 мл	3 × 1,8 мл	2040

Состав БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2×)

100 mM Трис-HCl, pH 8.5, 100 mM KCl, 0,5 мМ каждого нуклеозидтрифосфата, 10 мМ $MgCl_2$, 0.1 ед. акт./мкл HS-Taq ДНК-полимеразы, 0,1% Tween 20, стабилизаторы Taq ДНК-полимеразы, 525 нМ флуоресцентного красителя ROX.

Область применения:

- ПЦР с "горячим стартом" в режиме реального времени с применением флуоресцентно-меченых зондов и нормировкой данных по сигналу ROX;
- Обычная ПЦР;
- Высоковоспроизводимая ПЦР;
- Мультиплексная ПЦР;
- Генотипирование.

Свойства полимеразы

Рекомбинантная HS-Taq ДНК-полимераза обладает 5′-3′ ДНК-зависимой полимеразной активностью и 5′-3′ экзонуклеазной активностью нативной Taq ДНК-полимеразы из *Thermus aquaticus*. Скорость продвижения Taq ДНК-полимеразы зависит от сложности ДНК-матрицы и составляет примерно 1 т.п.о./мин. Рекомбинантная HS-Taq ДНК-полимераза идеально подходит для стандартной ПЦР и ПЦР в режиме реального времени.

Пассивный флуоресцентный краситель ROX

В состав смеси входит пассивный флуоресцентный краситель ROX, служащий внутренним стандартом для нормализации сигнала красителей, входящих в состав олигонуклеотидных зондов, при работе на ПЦР платформах, поддерживающих такую возможность (Applied Biosystems). ROX позволяет корректировать вариации между пробирками (лунками), возникающие из-за ошибок пипетирования, флуктуации флуоресценции. Присутствие ROX не оказывает влияния на протекание ПЦР и измерение уровня флуоресцентного сигнала, если смесь используется с другими ПЦР-платформами. Необходимо, однако, учитывать, что включение ROX в смесь ограничивает использование этого флуорофора для олигонуклеотидных зондов, а также других красителей, имеющих схожие спектральные характеристики (Em ~ 621 нм).

Свойства реакционной смеси

- Реакционная смесь неактивна при комнатной температуре благодаря технологии "горячий" старт и активируется после инкубации при 95 °C в течение 5 мин;
- Реакционная смесь оптимизирована для проведения ПЦР в режиме реального времени;
- Позволяет проводить нормировку по флуоресцентному красителю ROX;
- Эффективность ПЦР сохраняется на протяжении всего срока хранения смеси, а также при многократном замораживании-размораживании.

Преимущества использования

- Фермент с "горячим стартом" повышает специфичность, чувствительность и выход реакции;
- Для активации HS-Taq ДНК-полимеразы требуется не более 5 мин;
- Сокращение времени на подготовку реакции;
- Снижение вероятности контаминации и ошибки при смешивании компонентов ПЦР;
- Возможность нормировки данных;
- Стандартизация условий постановки однотипных реакций (снижается погрешность при смешивании компонентов ПЦР в разных экспериментах);
- Минимизация трудозатрат.

Ограничения к использованию

Не рекомендуется использовать для ПЦР в реальном времени с интеркалирующими красителями. Для таких приложений следует использовать наборы БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX SYBR (2×) или БиоМастер UDG HS-qPCR Hi-ROX SYBR (2×).

Протокол выполнения амплификации

1. Разморозить реакционную смесь и тщательно перемешать.
2. В тонкостенные пробирки для ПЦР добавить следующие компоненты из расчета объема одной реакционной смеси 25 мкл:

Компонент	Объем	Конечная концентрация
БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2×)	12,5 мкл	1×
Прямой праймер	переменный	0,1 – 600 нМ
Обратный праймер	переменный	0,1 – 600 нМ
Зонд	переменный	0,1 – 300 нМ
ДНК-матрица	переменный	1 пг – 1 мкг
Стерильная вода	до 25 мкл	

3. Осторожно перемешать и сбросить капли, используя центрифугу.

4. Провести ПЦР, используя рекомендованные ниже температурные условия:

Шаг	Температура, °С	Время инкубации	Количество циклов
Предварительная денатурация	95	5 мин	1
Денатурация	95	5-15 сек	30-50
Отжиг	50-68	10-30 сек	
Элонгация	58-72	5-30 сек	

Либо:

Шаг	Температура, °С	Время инкубации	Количество циклов
Предварительная денатурация	95	5 мин	1
Денатурация	95	5-15 сек	30-50
Отжиг/ элонгация		30-60 сек	

5. Результат проведения ПЦР отображается в виде кривых амплификации.

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.