



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-Taq ПЦР (2×)

Кат. номер МН010-200, МН010-1020

Описание:

Набор БиоМастер HS-Taq ПЦР (2×) содержит 2× реакционную смесь БиоМастер HS-Taq ПЦР (2×), 50 мМ MgCl₂ и буфер для нанесения (6×). 2× реакционная смесь БиоМастер HS-Taq ПЦР предназначена для проведения ПЦР-анализа большого количества образцов. В состав БиоМастер HS-Taq ПЦР (2×) реакционной смеси входят все необходимые компоненты для проведения ПЦР (исключая ДНК-матрицу и праймеры):

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

Смесь оптимизирована для проведения эффективной и воспроизводимой ПЦР с "горячим" стартом. В состав смеси входят добавки, повышающие время полужизни и процессивность HS-Taq ДНК-полимеразы за счет повышения её стабильности во время ПЦР. БиоМастер HS-Taq ПЦР (2×) реакционная смесь химически стабильна, инертна и не меняет оптимальной температуры отжига праймеров или 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:

Кат №	Биомастер HS-Taq ПЦР (2×)	50 мМ MgCl ₂	Вода	Буфер для нанесения (6×)	Количество реакций по 50 мкл
МН010-200	4 × 1.25 мл	1 × 1 мл	4 × 1.25 мл	1 × 1 мл	200
МН010-1020	17 × 1.5 мл	1 × 1,8 мл		2 × 1,8 мл	1020

Состав БиоМастер HS-Тaq ПЦР (2×):

100 мМ Трис-НСl, рН 8.5 (при 25 °С), 100 мМ КСl, 0.4 мМ каждого дезоксинуклеозидтрифосфата, 4 мМ MgCl₂, 0.06 ед. акт./мкл Таq ДНК-полимеразы, 0.2% Tween 20, стабилизаторы HS-Тaq ДНК-полимеразы.

Область применения:

- ПЦР с горячим стартом
- Высокопроизводительная ПЦР
- Обычная ПЦР с высокой воспроизводимостью
- Нарботка ПЦР-продуктов для ТА клонирования.

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 (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 изменению флюоресценции пробы.

Преимущества использования

- 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).
- Возможно использование в широком спектре видов ПЦР.
- 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. Взять тонкостенные пробирки для ПЦР и добавить следующие компоненты из расчета объема одной реакционной смеси 50 мкл:

Компонент	Объем	Конечная концентрация
Биомастер HS-Taq ПЦР (2x)	25	1x
Прямой праймер	переменный	0,1 – 600 нМ
Обратный праймер		
ДНК-матрица		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.

4. Провести ПЦР, используя рекомендованный режим:

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

T_m – температура плавления дуплекса матрица/праймер определяется структурой праймеров. Для приблизительного расчета T_m можно воспользоваться формулой: T_m (°С) = 2 × (A+T) + 4 × (G+C).

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 1xTAE 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 – 7дней; при +4 °С – 4 месяца; при -20°С – 18 месяцев; не более 50 циклов замораживания-размораживания.

Условия транспортировки:

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