



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-Color (2×)

Кат. номер МНС010-200, МНС010-1020

Описание:

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

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

Смесь оптимизирована для проведения эффективной и воспроизводимой ПЦР с "горячим" стартом. 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-Color (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°C 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. Добавленные красители и повышенная вязкость раствора позволяют наносить реакционную смесь сразу на гель.

Состав набора:

Каталожный номер	БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Color (2×)	50 мМ MgCl ₂	Вода	Кол-во реакций по 50 мкл
MHC010-200	4 × 1,25 мл	1 × 1 мл	4 × 1,25 мл	200
MHC010-1020	17 × 1,5 мл	1 × 1,8 мл	2 × 1,8 мл	1020

Состав БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Color (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 и красители.

Область применения:

- ПЦР с "горячим" стартом
- Высоко производительная ПЦР
- Обычная ПЦР с высокой воспроизводимостью
- Нарботка 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-Color (2×) в течение 30 дней при комнатной температуре не снижает эффективность ПЦР), многократного замораживания-размораживания;
- Смесь содержит красители, не влияющие на работу полимеразы, и компоненты, увеличивающие плотность пробы для удобства нанесения на гель.

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.

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).
- Облегчается стадия нанесения на гель. Благодаря высокой плотности смеси добавления в пробу буфера для нанесения не требуется.
- 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.
- Из-за содержания красителя смесь БиоМастер HS-Taq ПЦР-Color (2×) не может использоваться для ПЦР в режиме реального времени и других приложений, требующих измерения оптического поглощения или флуоресценции пробы. Для таких приложений следует использовать смесь БиоМастер qPCR (2×) и БиоМастер qPCR SYBR Blue (2×).

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-Color (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°C амплификатор.

4. Провести ПЦР, используя рекомендованный режим:

Шаг	Температура, °C	Время инкубации	Количество циклов
Предварительная денатурация	95	5 мин	1
Денатурация	95	5–20 сек	
Отжиг	50–68 (Tm–5)	5–30 сек	25–50
Элонгация	72	0,5–1 мин/т.п.о.	
Финальная элонгация	72	5–15 мин	1

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

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.

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 $+25^{\circ}\text{C}$ – 7 дней; при $+4^{\circ}\text{C}$ – 4 месяца; при -20°C – 1 год; 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.