



Биомастер HS-Тақ ПЦР (2×)

Кат. номер МН010-200, МН010-1020

Описание

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

- высокопроцессивная рекомбинантная HS-Тақ ДНК-полимераза;
- смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов;
- ПЦР-буфер;
- Mg²⁺ (4 мМ).

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

ДНК-полимераза, входящая в состав смеси, неактивна при комнатной температуре. Для её активации необходим прогрев реакционной смеси при 95 °С в течение 5 мин.

Входящий в набор раствор 50 мМ 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-Тақ ПЦР (2×)	50 мМ MgCl ₂	Стерильная 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, 100 мМ КСl, 0,4 мМ каждого дезоксирибонуклеозидтрифосфата, 4 мМ MgCl₂, 0,12 ед. акт./мкл HS-Тaq ДНК-полимеразы, 0,2% Tween 20, стабилизаторы HS-Тaq ДНК-полимеразы.

Область применения

- ПЦР с "горячим стартом";
- высокопроизводительная ПЦР;
- обычная ПЦР с высокой воспроизводимостью;
- наработка ПЦР-продуктов для ТА-клонирования;
- вторая стадия ОТ-ПЦР.

Свойства полимеразы

Рекомбинантная HS-Тaq ДНК-полимераза обладает 5'-3' ДНК-зависимой полимеразной активностью и 5'-3' экзонуклеазной активностью нативной Тaq ДНК-полимеразы из *Thermus aquaticus*. Скорость продвижения Тaq ДНК-полимеразы зависит от сложности ДНК-матрицы и составляет примерно 1 т.п.н./мин. Рекомбинантная HS-Тaq ДНК-полимераза идеально подходит для стандартной ПЦР с матрицы до 5 т.п.н.

Свойства реакционной смеси

- Реакционная смесь неактивна при комнатной температуре благодаря технологии "горячий старт" и активируется после инкубации при 95 °С в течение 5 мин;
- Смесь не содержит веществ, мешающих проведению оптического контроля за ходом реакции по изменению флуоресценции пробы;
- 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-Тaq ДНК-полимеразы требуется не более 5 мин;
- Сокращение времени на подготовку реакции;
- Снижение вероятности контаминации при смешивании компонентов ПЦР;
- Стандартизация условий постановки однотипных реакций (снижается погрешность при смешивании компонентов ПЦР в разных экспериментах).
- Возможность использования 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.н.

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 мкл	1x
Прямой праймер		0,1-600 нМ
Обратный праймер	переменный	0,1-600 нМ
ДНК-матрица		1 пг-1 мкг
Стерильная вода	До 50 мкл	

3. Осторожно перемешайте и сбросьте капли, используя центрифугу. Готовую реакционную смесь следует быстро переместить в предварительно прогретый до 95 °С амплификатор. В случае использования амплификатора без греющейся крышки добавьте 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	95	5-15 сек	
Отжиг	50-68 (Tm-5)*	5-20 сек	25-50
Элонгация	72	0,5-1 мин/т.п.н.	
Финальная элонгация	72	5-15 мин	1

* Tm – температура плавления дуплекса матрица/праймер определяется структурой праймеров. Для приблизительного расчета Tm можно воспользоваться формулой:

$$Tm (^{\circ}C) = 2 \times (A+T) + 4 \times (G+C).$$

5. После проведения ПЦР проанализируйте продукты амплификации электрофоретическим методом. Пробы смешайте с буфером для нанесения и нанесите на гель. Для разделения продуктов реакции электрофоретическим методом мы рекомендуем использовать 1x TAE буфер с бромистым этидием.

Подвижность красителей в 0,5-1,5% агарозном геле:

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

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.

Продукция компании Биолабмикс

Наборы для
выделения
ДНК/РНК



Наборы и смеси
для ПЦР



ОТ и ОТ-ПЦР



Изотермическая
амплификация



ДНК-маркеры



Ферменты



Олиго-
нуклеотиды



Платформа
для синтеза
мРНК



Маркеры
молекулярной
массы белков



Host cell
DNA detection



Контрактное
производство

Собственные
разработки

sales@biolabmix.ru
8 800 600 88 76

www.biolabmix.ru



9001:2015
13485:2016



ПОДПИСЫВАЙТЕСЬ
НА НАШУ ГРУППУ ВК
vk.com/biolabmix



ЗАХОДИТЕ НА НАШ
ТЕЛЕГРАМ КАНАЛ
t.me/biolabmix