



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

## Набор для проведения ПЦР с HS-Taq (+MgCl<sub>2</sub>)

Кат. номер КН016-500, КН016-2250

### Описание:

Набор для проведения ПЦР с HS-Taq (+MgCl<sub>2</sub>) содержит рекомбинантную HS-Taq ДНК-полимеразу и растворы всех необходимых компонентов для проведения стандартной ПЦР с "горячим" стартом, за исключением матрицы ДНК и праймеров. В состав набора входят: раствор HS-Taq ДНК-полимеразы (5 ед. акт./мкл), 5× ПЦР буфер (+MgCl<sub>2</sub>), 50 мМ MgCl<sub>2</sub>, 50× смесь dNTP и 6×буфер для нанесения на гель. Все реагенты высокого качества и оптимизированы для проведения ПЦР.

HS-Taq ДНК-полимераза представляет собой рекомбинантную Taq ДНК-полимеразу, инактивированную специфическими моноклональными антителами. HS-Taq ДНК-полимераза не активна при температуре до 70°C. Это позволяет избежать образования неспецифических продуктов и праймер-димеров при низкой температуре на стадии замешивания ПЦР. Активация осуществляется на первом цикле при короткой 5-и минутной инкубации при 95°C. Рекомбинантная 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 2 т.п.о./мин. Рекомбинантная HS-Taq ДНК-полимераза идеально подходит для стандартной ПЦР с матрицы до 5 т.п.о.

5× ПЦР буфер (+MgCl<sub>2</sub>) оптимизирован для проведения эффективной и воспроизводимой ПЦР. В состав буфера входят MgCl<sub>2</sub> (7,5 мМ) и добавки, повышающие время полужизни и процессивность HS-Taq ДНК-полимеразы за счет повышения её стабильности во время ПЦР. Буфер химически стабилен, инертен и не меняет оптимальной температуры отжига праймеров или характеристики плавления матрицы. Входящие в набор 50 мМ раствор MgCl<sub>2</sub> и 50× смесь dNTP позволяют легко оптимизировать реакцию под конкретную систему матрица-праймеры, а 6×буфер для нанесения на гель облегчает пробоподготовку для анализа в геле и контроль над ходом электрофореза.

## Состав набора:

Каталожный номер	HS-Taq DNA-полимераза, 5 ед. акт./мкл*	5× ПЦР буфер (+MgCl <sub>2</sub> )	50 мМ MgCl <sub>2</sub>	50× смесь dNTP (10 мМ каждого)	Буфер для нанесения (6×)	Кол-во, ед. акт.
КН016-500	1 × 100 мкл	2 × 1,5 мл	1 × 1 мл	2 × 200 мкл	1 × 1,5 мл	500
КН016-2250	3 × 150 мкл	8 × 1,5 мл	2 × 1 мл	2 × 400 мкл	3 × 1,5 мл	2250

\* За единицу активности принимали количество фермента, катализирующее включение 10 нмоль dNTP в кислотонерастворимый продукт за 30 мин при 74°C. Условия реакции: 50 мМ Трис-НСl, рН 9.0 (при 25°C), 50 мМ NaCl, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 200 мМ dATP, 200 мМ dCTP, 200 мМ dGTP, 50 мМ [<sup>3</sup>H] dTTP, 0,25 мг/мл активированной ДНК из тимуса теленка.

### Буфер хранения:

50 мМ Трис-НСl, рН 8.0 (при 25°C), 50 мМ NaCl, 0.1 мМ ЭДТА, 1мМ дитиотреитол, 50% (v/v) глицерин и 1% (v/v) Тритон X-100.

### 5× ПЦР буфер (+MgCl<sub>2</sub>):

50 мМ Трис-НСl, рН 8.5 (при 25°C), 250 мМ KCl, 7,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0.5% (v/v) Tween 20, стабилизаторы HS-Taq ДНК-полимеразы.

### Область применения:

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

### Ограничения к использованию

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

### Ингибирование и инактивация

Ингибиторы: ионные детергенты (дезоксихолат натрия, саркозил и додецилсульфат натрия (SDS) в концентрациях выше, чем 0.06, 0.02 и 0.01%, соответственно).

Инактивируется экстракцией смесью фенол/хлороформ.

### Протокол выполнения амплификации:

Приготовьте несколько параллельных реакций и минимизируйте возможную ошибку пипетирования. Приготовьте реакционную смесь ПЦР смешав воду, буфер, смесь dNTP, праймеры и HS-Taq ДНК-полимеразу. Приготовьте реакционную смесь в расчёте на количество реакций плюс одна.

Аликвотируйте реакционную смесь ПЦР в индивидуальные ПЦР пробирки и затем добавьте ДНК матрицу.

1. Разморозьте реакционную смесь и осторожно перемешайте.
2. В пробирки для ПЦР добавьте следующие компоненты из расчета объема одной реакционной смеси 50 мкл:

Компонент	Объем	Конечная концентрация
5× ПЦР буфер (+MgCl <sub>2</sub> )	10 мкл	1×
50× смесь dNTP	1 мкл	0.2 мМ каждого
50 мМ MgCl <sub>2</sub> *	переменный	2–5 мМ
Прямой праймер	переменный	0,1 – 600 нМ
Обратный праймер	переменный	0,1 – 600 нМ
ДНК-матрица	переменный	1 пг – 1 мкг
HS-Taq DNA-полимераза, 5 ед. акт./мкл	переменный	1-5 ед. акт
Стерильная вода	До 50 мкл	

\*буфер 5× ПЦР буфер (+MgCl<sub>2</sub>) уже содержит 7,5 мМ MgCl<sub>2</sub> (конечная концентрация 1,5 мМ)

- Осторожно перемешайте и сбросьте капли, используя центрифугу.

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

**Примечание:** Готовую реакционную смесь следует быстро переместить предварительно прогретый до 95°C амплификатор.

- Проведите ПЦР, используя рекомендованный режим:

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

T<sub>m</sub> – температура плавления дуплекса матрица/праймер определяется структурой праймеров. Для приблизительного расчета T<sub>m</sub> можно воспользоваться формулой:

$$T_m (°C) = 2 \times (A+T) + 4 \times (G+C).$$

- После проведения ПЦР проанализируйте продукты амплификации электрофорезом. Пробы смешиваются с буфером для нанесения и наносятся на гель.

**Примечание:** для разделения продуктов реакции электрофорезом мы рекомендуем использовать 1×TAE 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:**

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