



БиоМастер UDG HS-qPCR (2×)

Кат. номер МН021-400, МН021-2040

Описание

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

- высокопроцессивная рекомбинантная HS-Taq ДНК-полимераза;
- N-урацил-ДНК-гликозилаза;
- смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов;
- ПЦР-буфер;
- Mg²⁺ (10 мМ).

Смесь 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 UDG HS-qPCR (2×) не содержит вещества, влияющие на температуры отжига праймеров и характеристики плавления матрицы.

N-урацил-ДНК-гликозилаза (УДГ) и дУТФ (в пропорции с дТТФ) обеспечивают надежную защиту от переноса ампликона между реакционными смесями (кросс-контаминации). ДНК-полимераза, входящая в её состав БиоМастер UDG HS-qPCR (2×), неактивна при комнатной температуре. Для её активации необходим прогрев реакционной смеси при 95 °С в течение 5 мин. Представленная форма набора для проведения ПЦР экономит время и снижает вероятность контаминации за счет малого числа шагов пипетирования.

Состав набора

Кат. №	БиоМастер UDG HS-qPCR (2×)	Стерильная вода	Кол-во реакций по 25 мкл
МН021-400	4 × 1,25 мл	4 × 1,25 мл	400
МН021-2040	17 × 1,5 мл	3 × 1,8 мл	2040

Состав БиоМастер UDG HS-qPCR (2x)

100 mM Трис-НСl, рН 8,5, 100 mM КСl, смесь нуклеозидтрифосфатов (включая дУТФ), 10 mM MgCl₂, 0,1 ед. акт./мкл HS-Тaq ДНК-полимеразы, N-урацил-ДНК-гликозилаза, 0,2% Tween 20, стабилизаторы Тaq ДНК-полимеразы.

Область применения:

- ПЦР с "горячим стартом" в режиме реального времени с применением флуоресцентно-меченых зондов;
- Обычная ПЦР;
- Высоковоспроизводимая ПЦР;
- Мультиплексная ПЦР;
- Генотипирование.

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 и ПЦР в режиме реального времени.

Свойства реакционной смеси

- Реакционная смесь неактивна при комнатной температуре благодаря технологии "горячий старт" и активируется после инкубации при 95 °С в течение 5 мин;
- Присутствие дУТФ гарантирует встраивание уридина в каждую синтезированную цепь ДНК, УДГ способна удалять урацил из одно- и двух-цепочечных молекул ДНК;
- Реакционная смесь оптимизирована для проведения ПЦР в режиме реального времени;
- 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;
- Высокие селективность и выход реакции;
- Сокращение времени на подготовку реакции;
- Предотвращение повторной амплификации ПЦР-продуктов, попавших в реакционную смесь из другой смеси;
- Стандартизация условий постановки однотипных реакций (снижается погрешность при смешивании компонентов ПЦР в разных экспериментах).

Ограничения к использованию

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

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 UDG HS-qPCR (2x)	12,5 мкл	1x
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
Антиконтаминационная обработка	50	2 мин	1
Предварительная денатурация	95	5 мин	1
Денатурация	95	5-15 сек	
Отжиг	50-68	5-15 сек	30-50
Элонгация	58-72	5-30 сек	

Либо:

Шаг	Температура, °С	Время инкубации	Количество циклов
Антиконтаминационная обработка	50	2 мин	1
Предварительная денатурация	95	5 мин	1
Денатурация	95	5-15 сек	
Отжиг/ элонгация	50-68	30-60 сек	30-50

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.

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