



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 Фьюжн 2.0 полимеразой

Кат. номер КН042-100, КН042-500

Описание

Набор реагентов для постановки ПЦР с высокоточной Фьюжн 2.0 полимеразой. В набор входят отдельные компоненты такие как реакционный буфер, ионы магния, смесь дезоксинуклеотидтрифосфатов (dNTP), Фьюжн 2.0 полимеразы, вода и «энхансер ПЦР», что позволяет оптимизировать условия амплификации под задачи экспериментатора. В набор включен реакционный буфер для высокоточной амплификации (буфер Фьюжн 2.0), содержащий краситель, что позволяет непосредственно вносить реакционную смесь в гель для проведения электрофореза. А также «энхансер ПЦР» – добавка, позволяющая повысить эффективность ПЦР из образцов с высоким содержанием ингибирующих веществ.

Фьюжн 2.0 полимеразы является модифицированным вариантом Фьюжн ДНК-полимеразы (продукт № Е-11001) и обладает повышенной точностью относительно своего первоначального варианта Фьюжн ДНК-полимеразы (продукт № Е-11001) примерно в 3 раза или в ~15 раз относительно «нативной» Taq ДНК-полимеразы (продукт Е-3001).

Состав набора

1. Рекомбинантная Фьюжн 2.0 полимеразы, 1 е.а./мкл (слитая термостабильная ДНК-полимеразы *P. furiosus* (Pfu) и ДНК-связывающий белок *S. solfataricus* (Sso7d)). Фермент находится в буфере следующего состава: 20 мМ Tris-HCl (pH 7,5 при 25°C), 100 мМ KCl, 1 мМ ДТТ, 0,1 мМ ЭДТА, 200 мкг/мл БСА, 0,1% Tween 20, 0,1% Triton X-100, 50% глицерин.
2. 5x реакционный буфер, состав буфера: 150 мМ Tris-HCl (pH 9,0 при 25°C), 350 мМ KCl, 125 мМ (NH₄)₂SO₄, 500 мкг/мл БСА, 0,5% Tween 20, 0,25% IGEPAL, 0,25 % Triton X-100, краситель.
3. 5x «энхансер ПЦР» – добавка, позволяющая оптимизировать ПЦР для образцов с высоким содержанием ингибирующих веществ различной природы такие как, например, гепарин, кровь, почвенный экстракт, ЭДТА, додецилсульфат натрия (SDS). В большинстве случаев мы рекомендуем разводить «энхансер ПЦР» до 1x концентрации в конечной реакционной смеси.

4. 50x смесь dNTP (по 10 мМ каждого).
5. 100 мМ раствор MgCl₂.
6. Вода, обработанная диэтилпиракарбонатом свободная от нуклеаз.

Кат № *****	Фьюжн 2.0 полимераза	5x реакционный буфер	5x энхансер ПЦР	50x смесь dNTP	100 мМ раствор MgCl ₂	Вода
KN042 -100	1x100 мкл (100 е.а. *)	1x1,0 мл	1x1,0 мл	1x100 мкл	1x0,25 мл	2x2,0 мл
KN042 -500	1x500 мкл (500 е.а. *)	3x2,0 мл	3x2,0 мл	1x500 мкл	1x1,3 мл	10x2,0 мл

* одна единица активности соответствует количеству фермента, необходимому для включения 10 нмолей dNTP в кислотонерастворимую фракцию ДНК за 30 мин при 74°C.

Область применения

Фьюжн 2.0 полимеразы обладает 5'→3' полимеразной активностью, 3'→5' экзонуклеазной активностью и подходит для высокоточной амплификации фрагментов ДНК размером до 10 т.п.н. и их последующего клонирования. Для точной амплификации рекомендуется использовать 5x реакционный буфер без добавки «энхансера ПЦР».

Фьюжн 2.0 полимеразы в сочетании с 5x реакционным буфером и «энхансером ПЦР» подходит для амплификации фрагментов ДНК методом ПЦР из различных образцов с высоким содержанием ингибирующих веществ различной природы (гепарин, кровь, почвенный экстракт, ЭДТА, СДС и прочие).

Протокол проведения стандартной реакции ПЦР с Фьюжн 2.0 полимеразой

1. Предварительно разморозьте компоненты набора и перемешайте растворы.
2. Смешайте индивидуальные компоненты в пробирке согласно таблице (для оптимального результата при замешивании реакционной смеси держите компоненты и реакционную смесь во льду):

Компонент	Реакционная смесь, 25 мкл	Реакционная смесь, 50 мкл	Конечная концентрация
Вода без нуклеаз	до 25 мкл	до 50 мкл	-
5x реакционный буфер	5 мкл	10 мкл	1x
5x Энхансер ПЦР ¹	0-7 мкл	0-14 мкл	-
50x смесь dNTP (по 10 мМ каждый)	0,5 мкл	1 мкл	по 200 мкМ каждого dNTP
100 мМ раствор MgCl ₂	переменный объем		2-5 мМ ²
Прямой праймер	переменный объем		100-500 нМ
Обратный праймер	переменный объем		100-500 нМ
Образец ДНК	переменный объем		от 1 пг до 250 нг

Фьюжн 2.0 полимераз ³ , 1 е.а./мкл	0,25-0,5 мкл	0,5-1,0 мкл	0.5 е.а. /50 мкл реакц. смеси
--	-----------------	-------------	----------------------------------

¹ Указан примерный диапазон количества в реакцию, рекомендуем подбирать количество «энхансера ПЦР» для каждого ингибитора индивидуально.

² В большинстве случаев мы рекомендуем использовать концентрацию ионов магния в диапазоне 2-3 мМ, однако если известно, что образец содержит вещества хелатирующие ионы магния – типа ЭДТА, концентрацию можно увеличить до 5 мМ.

³ Рекомендуется добавлять Фьюжн 2.0 полимеразу в последнюю очередь, так как фермент проявляет 3'→5' экзонуклеазную активность и может разрушать праймеры в отсутствие dNTP.

3. Аккуратно перемешайте содержимое пробирки и «сбросьте капли» с помощью непродолжительного центрифугирования.

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

4. Перенесите пробирку с реакционной смесью в амплификатор.

5. Используйте следующую программу для стандартной ПЦР:

Стадия	Температура и время	Количество циклов
Предварительная денатурация	98°C, 30-120 сек	1 цикл
Денатурация	98°C, 5-10 сек	
Отжиг праймеров*	50-72°C, 10-30 сек	25-35 циклов
Элонгация	72°C, 15-30 сек/1 т.п.н.	
Финальная элонгация	5-10 мин	1 цикл

* при амплификации больших фрагментов (≥ 5 т.п.н.) рекомендуется пропускать данную стадию

6. Проанализируйте продукты ПЦР в агарозном геле. Пробы наносятся в гель без добавления буфера для нанесения. Реакционный буфер содержит ксиленцианол, что позволяет ориентироваться в подвижности фрагментов в геле.

Условия хранения

Хранить при температуре -20°C.

Компоненты набора гарантированно выдерживают 20 циклов «заморозки-разморозки» без существенной потери активности.

Условия транспортировки

Допускается транспортирование при температуре не выше +25°C в течение трех суток.

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 В VK