



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

## **LyоМастер HS-Тaq ПЦР (2\*)**

Кат. номер LMН010-100, LMН010-450

### **Описание**

Набор LyоМастер HS-Тaq ПЦР содержит лиофилизированную смесь LyоМастер HS-Тaq ПЦР, 50 мМ MgCl<sub>2</sub> и буфер для нанесения (6×). Лيوфилизированная смесь LyоМастер HS-Тaq ПЦР предназначена для проведения ПЦР-анализа большого количества образцов. Лيوфилизированная форма удобна в обращении, не требует специального температурного режима для транспортировки и хранения реактива. Для подготовки реагента к использованию достаточно добавить безнуклеазную воду. В состав LyоМастер HS-Тaq ПЦР реакционной смеси входят все необходимые компоненты для проведения ПЦР (исключая ДНК-матрицу и праймеры):

- высокопроцессивная рекомбинантная Тaq ДНК-полимераза;
- смесь дезоксирибонуклеозидтрифосфатов;
- ПЦР-буфер;
- Mg<sup>2+</sup>
- криопротекторы;
- стабилизаторы.

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. Реакционная смесь LyоМастер HS-Тaq ПЦР 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 ресуспендированной реакционной смеси при 95 °С в течение 5 мин.

Входящий в набор раствор MgCl<sub>2</sub> 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 №	LyоMaster HS- Taq ПЦР	50 мМ MgCl <sub>2</sub>	Буфер для нанесения (6×)	Количество реакций по 40 мкл
LMH010-100	4 × 0,5 мл	1 × 0,5 мл	1 × 0,5 мл	100
LMH010-450	18 × 0,5 мл	1 × 1 мл	1 × 1 мл	450

### Состав LyоMaster HS-Taq ПЦР при разведении в 0,5 мл воды

100 мМ Трис-НСl, рН 8,5 (при 25 °С), 100 мМ КСl, 0,4 мМ каждого дезоксирибонуклеозидтрифосфата, 4 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,15 ед. акт./мкл Таq ДНК-полимеразы, 0,2% Tween 20, стабилизаторы HS-Taq ДНК-полимеразы, криопротекторы.

### Область применения

- ПЦР с “горячим стартом”;
- высокопроизводительная ПЦР;
- обычная ПЦР с высокой воспроизводимостью;
- наработка ПЦР-продуктов для ТА-клонирования.

### Свойства полимеразы

Рекомбинантная HS-Taq 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-Taq ДНК-полимераза идеально подходит для стандартной ПЦР с матрицы до 5 т.п.о.

### Свойства реакционной смеси

- Реакционная смесь оптимизирована для специфичной работы HS-Taq ДНК-полимеразы;
- Реакционная смесь представлена в лиофилизированной форме и не требует особых температурных условий хранения;
- Технология сублимационной сушки позволяет увеличить сроки длительного хранения. Хранение **LyоMaster HS-Taq ПЦР** в течение трех месяцев при комнатной температуре и двенадцати месяцев при температуре +4°С не снижает эффективность ПЦР;
- После ресуспендирования смесь не снижает эффективности после 30 циклов заморозки/разморозки;
- Смесь содержит компоненты, увеличивающие плотность пробы для удобства работы с ней;
- Ресуспендированная 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.

## **Преимущества использования**

- Фермент с "горячим стартом" повышает специфичность, чувствительность и выход реакции.
- Для активации HS-Taq 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).
- Возможно использование 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.о.

## **Протокол выполнения амплификации**

Лиофилизированная форма реакционной смеси позволяет более гибко подходить к схеме её использования. Ниже представлено три варианта протоколов использования лиофилизированной смеси **LyоMaster HS-qPCR: базовый, модифицированный и кастомизированный.**

### *Базовый протокол*

Базовый протокол предполагает получение 2× реакционной смеси после ресуспендирования сухой смеси. Для этого нужно внести 500 мкл стерильной воды в лиофилизированную реакционную смесь и тщательно перемешать.

### *Модифицированный протокол*

Модифицированный протокол предполагает получение 4× реакционной смеси после ресуспендирования сухой смеси. Для этого нужно внести 250 мкл стерильной воды в лиофилизированную реакционную смесь и тщательно перемешать.

### *Кастомизированный протокол*

Кастомизированный протокол – это протокол, разработанный пользователем. Данный подход может быть удобен при использовании всего объема пробирки, например, для тестирования с одной парой праймеров или при ином варианте. Пользователь самостоятельно может определять объем и состав растворителя. В случае кастомизированного подхода объем реакции можно варьировать, а кратность смеси зависит от выбранного объема растворителя.

### *Состав реакционной смеси для проведения амплификации.*

1. В тонкостенные пробирки для ПЦР добавить следующие компоненты из расчета объема одной реакционной смеси 40 мкл (**для базового и модифицированного протоколов**):

Компонент	Объем, мкл	Конечная концентрация
<b>LyоMaster HS-Taq ПЦР (2x)/(4x)</b>	<b>20/10</b>	<b>1x</b>
Прямой праймер		0,1-600 нМ
Обратный праймер	переменный	0,1-600 нМ
ДНК-матрица		1 пг-1 мкг
Стерильная вода	До 40 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.

4. Провести ПЦР, используя рекомендованный режим:

Шаг	Температура, °С	Время инкубации	Количество циклов
Предварительная денатурация	95	3-5 мин	1
Денатурация	95	5-10 сек	
Отжиг	50-68 (Tm-5)	5-15 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 проанализировать продукты амплификации электрофорезом. Пробы наносятся на гель без добавления буфера для нанесения.

**Примечание:** для разделения продуктов реакции электрофорезом мы рекомендуем использовать 1 x 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 – до 6 месяцев; при +4 °С – до 12 месяцев; при -20°С – 18 месяцев.

### Условия транспортировки

Допускается транспортировка при температуре окружающей среды в течение 7-14 суток, при этом, температура не должна превышать +30°С.