



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

## **БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2×)**

Кат. номер MHR020 -400, MHR020-2040

### **Описание**

Набор БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2×) содержит 2× реакционную смесь БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2×) и стерильную воду. 2× реакционная смесь БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2×) предназначена для проведения количественного ПЦР в режиме реального времени с использованием флуоресцентно-меченых зондов на амплификаторах, поддерживающих нормализацию данных по флуоресцентному красителю ROX. В состав БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2×) входят все необходимые компоненты ПЦР (исключая ДНК-матрицу, праймеры и зонд):

- высокопроцессивная рекомбинантная HS-Taq ДНК-полимераза;
- смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов;
- ПЦР буфер;
- $Mg^{2+}$ ;
- Краситель ROX.

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

ДНК-полимераза, входящая в состав смеси БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2×) неактивна при комнатной температуре. Для её активации необходим прогрев реакционной смеси при 95 °С в течение 5 мин.

Смесь идеально подходит для амплификаторов, обеспечивающих нормализацию сигнала по пассивному референсному красителю ROX: Life Technologies (ABI) 7000, 7300, 7700, 7900, 7900HT, StepOne Plus. Представленная форма набора для проведения ПЦР экономит время и снижает вероятность контаминации за счет малого числа шагов пипетирования.

## Состав набора

Каталожный номер	БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2x)	Вода	Кол-во реакций по 25 мкл
MHR020-400	4 × 1,25 мл	4 × 1,25 мл	400
MHR020-2040	17 × 1,5 мл	3 × 1,8 мл	2040

### Состав БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2x)

100 мМ Трис-НCl, pH 8,5, 100 мМ KCl, 0,4 мМ каждого нуклеозидтрифосфата, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,1 ед. акт./мкл HS-Taq ДНК-полимеразы, 0,025% Tween 20, стабилизаторы Taq ДНК-полимеразы, 0,9 мкМ флуоресцентный краситель ROX.

### Ограничения к использованию

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

### Область применения

- ПЦР с "горячим стартом" в режиме реального времени с применением флуоресцентно-меченых зондов и нормировкой данных по сигналу ROX;
- Обычная ПЦР;
- Высоковоспроизводимая ПЦР;
- Мультиплексная ПЦР;
- Генотипирование.

### Свойства полимеразы

Рекомбинантная HS-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 1 т.п.о./мин. Рекомбинантная HS-Taq ДНК-полимераза идеально подходит для стандартной ПЦР и ПЦР в режиме реального времени.

### Пассивный флуоресцентный краситель ROX

В состав смеси входит пассивный флуоресцентный краситель ROX, служащий внутренним стандартом для нормализации сигнала красителей, входящих в состав олигонуклеотидных зондов, при работе на ПЦР-платформах, поддерживающих такую возможность (Applied Biosystems). ROX позволяет корректировать вариации между пробирками (лунками), возникающие из-за ошибок пипетирования, флуктуации флуоресценции. Присутствие ROX не оказывает влияния на протекание ПЦР и измерение уровня флуоресцентного сигнала, если смесь используется с другими ПЦР-платформами. Необходимо, однако, учитывать, что включение ROX в смесь ограничивает использование этого флуорофора для олигонуклеотидных зондов, а также других красителей, имеющих схожие спектральные характеристики (Em ~ 621 нм).

## Свойства реакционной смеси

- Реакционная смесь неактивна при комнатной температуре благодаря технологии “горячий старт” и активируется после инкубации при 95 °С в течение 5 мин;
- Позволяет проводить нормировку по флуоресцентному красителю ROX;
- Смесь оптимизирована для специфичной работы HS-Taq ДНК-полимеразы, длительного хранения (хранение БиоМастер HS-qPCR Hi-ROX (2x) в течение месяца при комнатной температуре не снижает эффективность ПЦР), многократного замораживания–размораживания.

## Преимущества использования

- Фермент с “горячим стартом” повышает специфичность, реакции;
- Для активации HS-Taq ДНК-полимеразы требуется не более 5 мин;
- Высокие селективность и выход реакции;
- Сокращается время на подготовку реакции;
- Снижается вероятность контаминации и ошибки при смешивании компонентов ПЦР;
- Возможность нормировки данных;
- Стандартизируются условия постановки однотипных реакций (снижается погрешность при смешивании компонентов ПЦР в разных экспериментах).

## 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 HS-qPCR Hi-ROX (2x)	12,5	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
Предварительная денатурация	95	5 мин	1
Денатурация	95	5-15 сек	
Отжиг	50-68	10-30 сек	30-50
Элонгация	58-72	5-30 сек	

Либо:

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

5. Результат проведения ПЦР отображается в виде кривых амплификации.

#### **Условия хранения**

Хранить в месте, защищенном от попадания света:  
при +25 °С - 7дней; 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.