Lumiprobe
Life science solutions

Амплификация ДНК с лиофилизованными шариками для ПЦР DryDrops® PCR

Лиофилизованные шарики для ПЦР (x1534) — предварительно приготовленная и расфасованная форма реакционной смеси для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР). Каждый лиофилизованный шарик для ПЦР представляет собой сухую гранулу, содержащую все необходимые компоненты для проведения ПЦР объёмом 25 мкл.

Состав содержит высокопроцессивную Taq-полимеразу с горячим стартом. Шарики обеспечивают большую воспроизводимость между реакциями за счет минимизации этапов пипетирования, снижения вероятности ошибок при пипетировании, а также контаминации образцов. Каждая партия шариков для ПЦР проходит функциональное тестирование для обеспечения воспроизводимости от партии к партии.

Шарики подходят для проведения ПЦР с детекцией в режиме реального времени, в том числе для количественного анализа (с флуоресцентными зондами или интеркалирующим красителем, например, Eva488); а также для амплификации ДНК с последующей детекцией результатов методом электрофореза. Шарики также подходят для рутинных задач по клонированию и других применений, требующих дальнейшей работы с продуктом ПЦР после амплификации.

Лиофилизованный формат позволяет хранить готовую ПЦР-смесь до 12 месяцев при температуре до +4°C.

Состав реакционной смеси:

- Taq-полимераза с горячим стартом;
- смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов (dNTP);
- оптимизированный буфер для ПЦР (содержит Mg^{2+}с концентрацией 3 мМ в 1x реакционной смеси);
- протекторы для лиофилизации.

Совместимость с оборудованием:

Лиофилизованные шарики для ПЦР совместимы с амплификаторами любого типа и могут быть использованы как для постановки ПЦР в амплификаторах с классическими термоблоками для ПЦР-пробирок, так и в амплификаторах с картриджами.

Возможные приложения:

Качественная и количественная ПЦР с детекцией в режиме реального времени, амплификация с последующим гель-электрофорезом, ПЦР после предварительной обратной транскрипции, генотипирование, ПЦР для проверки колоний, получение продукта для TA-клонирования, секвенирования и др.

Lumiprobe Corporation
115 Airport Dr Suite 160
Westminster, Maryland 21157
USA
Phone: +1 888 973 6353
Fax: +1 888 973 6354
Email: order@lumiprobe.com

Lumiprobe GmbH
Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany
Phone: +49 511 16596811
Fax: +49 511 16596815
Email: de@lumiprobe.com

Lumiprobe RUS Ltd
Kotsyubinsky street, 4
121351 Moscow
Russian Federation
Phone: +7 800 775 3271
Email: ru@lumiprobe.com

Lumiprobe Limited
Suite 12, 3/F, Great Eagle Centre
23 Harbour Road, Wan Chai
Hong Kong
Mob.: +852-5929-0488 (from HK)
Phone: +86-147-14316277 (from China)
Email: hk@lumiprobe.com

Lumiprobe LTD
2 Tuvim St.
3223562, Haifa
Israel
Phone: +972-(0)4-374-0377
Email: il@lumiprobe.com

Lumiprobe Co., Ltd.
10H-11, Shenmao Commercial Center
No. 59 Xinwen Rd., Meiling Community
Lianhua Street, Futian District
Shenzhen, China
Phone: +86-1471431-6277
Email: cn@lumiprobe.com

Протокол

! Объем реакции может варьироваться в зависимости от конкретной задачи, однако всегда должен быть кратным 25 мкл.

1. Предварительно смешайте в отдельной пробирке компоненты реакции, кроме ДНК, согласно приведённой ниже таблице, из расчёта на (N+0,1N) реакций, где N — необходимое число реакций.

- **Расчет на одну реакцию объемом 25 мкл с детекцией в режиме реального времени:**

Компонент	Объем	Примечание
Прямой праймер	0,5–1,5 мкл 10 мкМ раствора	5–15 пмоль/реакцию (конечная концентрация 200–600 нМ)
Обратный праймер	0,5–1,5 мкл 10 мкМ раствора	
Зонд *или*	0,25–0,75 мкл 10 мкМ раствора	2,5–7,5 пмоль/реакцию (конечная концентрация 100–300 нМ)
Интеркалирующий краситель	Согласно рекомендации производителя	
ДНК	2–9 мкл	Добавляется в п.4 отдельно в каждую пробирку.
Деионизованная вода	Добавляется до общего объема реакционной смеси 24 мкл	С учетом объема образца ДНК, который будет добавлен в п.4.
Общий объём реакционной смеси	**24 мкл**	При использовании другого объема реакции следует пересчитать объемы компонентов реакции с сохранением приведенных пропорций

- **Расчет на одну реакцию объемом 25 мкл с детекцией методом гель-электрофореза:**

Компонент	Объем	Примечание
Прямой праймер	0,5–1,5 мкл 10 мкМ раствора	5–15 пмоль/реакцию (конечная концентрация 200–600 нМ)
Обратный праймер	0,5–1,5 мкл 10 мкМ раствора	
ДНК	2–9 мкл	Добавляется в п.4 отдельно в каждую пробирку.
Деионизованная вода	Добавляется до общего объема реакционной смеси 24 мкл	С учетом объема образца ДНК, который будет добавлен в п.4.
Общий объём реакционной смеси	**24 мкл**	При использовании другого объема реакции следует пересчитать объемы компонентов реакции с сохранением приведенных пропорций

Lumiprobe Corporation
115 Airport Dr Suite 160
Westminster, Maryland 21157
USA
Phone: +1 888 973 6353
Fax: +1 888 973 6354
Email: order@lumiprobe.com

Lumiprobe GmbH
Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany
Phone: +49 511 16596811
Fax: +49 511 16596815
Email: de@lumiprobe.com

Lumiprobe RUS Ltd
Kotsyubinsky street, 4
121351 Moscow
Russian Federation
Phone: +7 800 775 3271
Email: ru@lumiprobe.com

Lumiprobe Limited
Suite 12, 3/F, Great Eagle Centre
23 Harbour Road, Wan Chai
Hong Kong
Mob.: +852-5929-0488 (from HK)
Phone: +86-147-14316277 (from China)
Email: hk@lumiprobe.com

Lumiprobe LTD
2 Tuvim St.
3223562, Haifa
Israel
Phone: +972-(0)4-374-0377
Email: il@lumiprobe.com

Lumiprobe Co., Ltd.
10H-11, Shenmao Commercial Center
No. 59 Xinwen Rd., Meiling Community
Lianhua Street, Futian District
Shenzhen, China
Phone: +86-1471431-6277
Email: cn@lumiprobe.com

2. Чистый пинцет протрите 70% раствором этанола и высушите. Пинцетом поместите по одному шарику в каждую пробирку для ПЦР.
3. Добавьте к шарикам приготовленную реакционную смесь.
4. Внесите в каждую пробирку отдельным наконечником пипетки 2–9 мкл образца ДНК/кДНК (суммарно 50–100 нг геномной ДНК, 1–100 пг плазмидной ДНК). После добавления ДНК суммарный объём реакции должен составить 25 мкл (шарик вносит 1 мкл в объём реакции), сбросьте капли центрифугированием.
5. Проведите амплификацию ДНК с использованием приведенных программ (температура отжига праймеров рассчитывается индивидуально для каждой пары праймеров).

- **Если температура отжига праймеров ≥60°C**

Стадия	Температура	Время	Число циклов
Активация HS Taq-полимеразы	95°C	5 мин	1
Денатурация	95°C	10 с	40–50
Отжиг праймеров, совмещенный с элонгацией (На этом этапе должна производиться детекция флуоресценции)	60–72°C		

- **Если температура отжига праймеров <60°C**

Стадия	Температура	Время	Число циклов
Активация HS Taq-полимеразы	95 °C	5 мин	1
Денатурация	95°C	10 с	40–50
Отжиг праймеров (На этом этапе должна производиться детекция флуоресценции)	55–59°C	10–15 с	
Элонгация	72&°C	15–30 с	

6. В случае использования интеркалирующего красителя для того, чтобы убедиться в отсутствии неспецифической амплификации, рекомендуется провести плавление ампликона в диапазоне от 60 до 95°C после проведения амплификации.
7. Для анализа результатов ПЦР методом гель-электрофореза: смешайте образцы с буфером для нанесения на гель и внесите их в лунки геля, проведите электрофорез.
8. При необходимости продукты амплификации можно хранить при -20°C.

Lumiprobe Corporation
115 Airport Dr Suite 160
Westminster, Maryland 21157
USA
Phone: +1 888 973 6353
Fax: +1 888 973 6354
Email: order@lumiprobe.com

Lumiprobe GmbH
Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany
Phone: +49 511 16596811
Fax: +49 511 16596815
Email: de@lumiprobe.com

Lumiprobe RUS Ltd
Kotsyubinsky street, 4
121351 Moscow
Russian Federation
Phone: +7 800 775 3271
Email: ru@lumiprobe.com

Lumiprobe Limited
Suite 12, 3/F, Great Eagle Centre
23 Harbour Road, Wan Chai
Hong Kong
Mob.: +852-5929-0488 (from HK)
Phone: +86-147-14316277 (from China)
Email: hk@lumiprobe.com

Lumiprobe LTD
2 Tuvim St.
3223562, Haifa
Israel
Phone: +972-(0)4-374-0377
Email: il@lumiprobe.com

Lumiprobe Co., Ltd.
10H-11, Shenmao Commercial Center
No. 59 Xinwen Rd., Meiling Community
Lianhua Street, Futian District
Shenzhen, China
Phone: +86-1471431-6277
Email: cn@lumiprobe.com