

Амплификация ДНК с реакционной смесью для ПЦР/кПЦР ProbeMaster® Lyo UNI, 5x

ProbeMaster® Lyo UNI — готовая лиофилизированная реакционная смесь, содержащая все необходимые компоненты для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Лиофилизированный формат позволяет транспортировать продукт при комнатной температуре до трех недель. Для восстановления смеси в жидкую форму достаточно добавить указанное в инструкции количество воды.

Смесь ProbeMaster® Lyo UNI подходит как для проведения ПЦР в реальном времени, так и для амплификации ДНК с последующей детекцией результатов методом электрофореза. Из-за отсутствия в составе UDG/dUTP данная смесь может использоваться для рутинных задач по клонированию и других задач, требующих дальнейшего использования продукта ПЦР после амплификации.

Состав реакционной смеси

- HS Taq ДНК-полимераза
- смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов
- ПЦР-буфер (содержит Mg^{2+})
- протекторы для лиофилизации

Ключевые характеристики смеси

- Одна пробирка лиофилизированной смеси после разведения в 450 мкл воды рассчитана на проведение 100 реакций объемом 25 мкл.
- Смесь полностью готова к применению, что снижает риск контаминации образцов и значительно экономит время на постановку реакции. Для постановки стандартной ПЦР (с последующим анализом методом гель-электрофореза) в смесь необходимо добавить только образец ДНК, праймеры и воду. Для постановки количественной ПЦР в смесь необходимо добавить интеркалирующий краситель или зонд для детекции продукта амплификации, образец ДНК, праймеры и воду.
- Для детекции флуоресценции следует использовать ДНК-зонд, меченный флуорофором и тушителем (гидролизующие зонды, «молекулярные маяки», праймеры типа «скорпион») или два зонда, меченных флуорофорами, образующими FRET-пару (вы можете заказать [синтез зондов в Lumiprobe](#)). Помимо ДНК-зондов, для детекции флуоресценции может использоваться интеркалирующий краситель [dsGreen](#).
- Подходит для ПЦР фрагментов длиной до 3 тыс. п.о., не более 70% GC, не требующих высокоточной амплификации.
- В качестве матрицы может использоваться геномная, вирусная, плазмидная ДНК и др.
- В состав реакционной смеси входит Taq-полимераза с технологией «горячего старта». Используемая HS Taq ДНК-полимераза представляет собой комплекс моноклональных антител с ферментом. Прогрев образца в первом цикле

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

ПЦР приводит к инаktivации антител в составе комплекса и активирует фермент. Технология «горячего старта» позволяет предотвратить неспецифическую амплификацию и образование димеров праймеров.

- Входящая в состав HS Taq ДНК-полимераза обладает 5'-3' полимеразной, 5'-3' экзонуклеазной, аденилтрансферазной активностью, что позволяет использовать продукты ПЦР для ТА-клонирования.
- Не содержит UDG и dUTP.

Возможные приложения

Количественная ПЦР (ПЦР-РВ) с применением интеркалирующих красителей типа dsGreen или гидролизуемых зондов, стандартная ПЦР (с последующим анализом методом гель-электрофореза), ПЦР после предшествующего синтеза кДНК, генотипирование, ПЦР для проверки колоний, получение продукта для ТА-клонирования и др.

Совместимость с оборудованием

Совместим с амплификаторами любого типа

Протокол

1. Перед началом работы добавьте в лиофилизированную смесь 450 мкл деионизированной воды, подождите 1 минуту, перемешайте содержимое пробирки и сбросьте капли центрифугированием.
2. В дальнейшем восстановленную смесь можно хранить при +4°C в течение 30 дней или заморозить и хранить при -20°C в пределах срока годности. Допускается до 5 раз замораживать/размораживать смесь после восстановления из лиофилизированной формы.
3. Смешайте компоненты реакции согласно приведённой ниже таблице в указанной последовательности из расчёта на (N+0,1N) реакций, где N — необходимое число реакций. Готовую смесь перемешайте и сбросьте капли центрифугированием.

! Для получения воспроизводимых результатов кПЦР рекомендуется ставить реакции в 2 и более повторах для каждого образца ДНК.

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

• **Расчет на 1 реакцию объемом 25 мкл* с детекцией в режиме реального времени:**

Компонент	Объем	Примечание
Реакционная смесь для ПЦР, 5x	5 мкл	
Прямой праймер	0,5–1,0 мкл 10 мкМ раствора	Конечная концентрация 200–400 нМ
Обратный праймер	0,5–1,0 мкл 10 мкМ раствора	
Зонд или Интеркалирующий краситель	0,25–0,75 мкл 10 мкМ раствора Согласно рекомендации производителя	Конечная концентрация 100–300 нМ
Деионизованная вода	Добавляется до общего объема реакционной смеси 25 мкл*	С учетом объема образца ДНК, который будет добавлен в п.4
ДНК	2–9 мкл (кДНК, 50–100 нг геномной ДНК, 1–100 пг плазмидной ДНК)	Добавляется отдельно в каждую пробирку в п.4
Общий объем реакции	25 мкл*	При использовании другого объема реакции следует пересчитать объемы компонентов реакции с сохранением приведенных пропорций

• **Расчет на 1 реакцию ПЦР объемом 25 мкл* с детекцией методом гель-электрофореза:**

Компонент	Объем	Примечание
Реакционная смесь для ПЦР, 5x	5 мкл	
Прямой праймер	0,5–1,5 мкл 10 мкМ раствора	Конечная концентрация 200–600 нМ
Обратный праймер	0,5–1,5 мкл 10 мкМ раствора	
Деионизованная вода	Добавляется до общего объема реакции 25 мкл*	
ДНК	2–9 мкл (кДНК, 50–100 нг геномной ДНК, 1–100 пг плазмидной ДНК)	Добавляется отдельно в каждую пробирку в п.4
Общий объем реакции	25 мкл*	При использовании другого объема реакции следует пересчитать объемы компонентов реакции с сохранением приведенных пропорций

*Объем реакции можно менять в зависимости от конкретной задачи, однако проводить реакцию в объеме менее 10 мкл не рекомендуется.

4. В пробирки для ПЦР внесите готовую смесь без учета объема образца ДНК.
5. Внесите в каждую пробирку отдельным наконечником пипетки 2–9 мкл образца ДНК/кДНК (кДНК, 30–100 нг геномной ДНК, 1–100 пг плазмидной ДНК). После добавления ДНК суммарный объем реакции должен составить 25 мкл. Закройте крышки пробирок, сбросьте капли центрифугированием.
6. Проведите амплификацию ДНК с использованием приведенных программ (температура отжига праймеров рассчитывается индивидуально для каждой пары праймеров).

• **Если температура отжига праймеров $\geq 60^{\circ}\text{C}$**

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	30–60 с	

• **Если температура отжига праймеров $< 60^{\circ}\text{C}$**

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, после проведения амплификации, для того чтобы убедиться в отсутствии неспецифической амплификации, рекомендуется провести плавление ампликона в диапазоне от 60 до 95°C.
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 .

Условия хранения

- Транспортировка: При температуре до $+25^{\circ}\text{C}$ — до 21 дня.
- Хранение: при температуре не выше $+4^{\circ}\text{C}$ — 12 месяцев в пределах срока годности.
- После восстановления в жидкую форму хранить при $+4^{\circ}\text{C}$ до 30 дней или заморозить и хранить при -20°C в пределах срока годности. Допускается не более 5 циклов замораживания/размораживания смеси после восстановления из лиофилизированной формы.
- Срок годности: 12 месяцев с даты поставки, если иное не указано в паспорте товара.

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