Амплификации ДНК с реакционной смесью для ПЦР ProbeMaster® Lyo GEL, 5×

ProbeMaster® Lyo GEL — готовая лиофилизированная реакционная смесь, содержащая все необходимые компоненты для проведения ПЦР с дальнейшей детекцией результатов методом электрофореза. Ее состав оптимизирован для получения идеальных результатов по процессивности и специфичности амплификации. Благодаря высокой плотности смеси и наличию в ней красителей (бромфенолового синего и ксиленцианола), образец перед нанесением на гель не нужно смешивать с буфером для нанесения. Наличие двух красителей позволяет четко контролировать время электрофореза.

Реакционная смесь ProbeMaster® Lyo GEL подходит для амплификации ДНК с последующей детекцией результатов методом электрофореза, и может быть использована для рутинных задач по клонированию и других задач, требующих дальнейшего использования продукта ПЦР после амплификации (смесь не содержит UDG/dUTP).

Из-за содержания красителей видимого спектра, ProbeMaster® GEL не подходит для ПЦР в режиме реального времени. При необходимости Вы можете заказать реакционную смесь для ПЦР в реальном времени ProbeMaster® Lyo UNI.

Состав реакционной смеси:

- HS Taq ДНК-полимераза;
- смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов;
- ПЦР-буфер (содержит Mg^{2+});
- красители для нанесения на гель;
- протекторы для лиофилизации.

Ключевые характеристики смеси:

- Одна пробирка лиофилизованной смеси после разведения в 450 мкл воды рассчитана на проведение 100 реакций объемом 25 мкл.
- Смесь полностью готова к работе. Для постановки реакции в смесь необходимо добавить только образец ДНК, праймеры и воду, что значительно экономит время на постановку реакции. Формат готовой реакционной смеси снижает риск контаминации образцов.
- 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.
- Содержит высокопроцессивную Hot-Start Taq-полимеразу с активацией 5 мин при 95°C. Используемая HS Taq ДНК-полимераза представляет собой комплекс моноклональных антител с ферментом. Прогрев образца в первом цикле ПЦР приводит к инактивации антител в составе комплекса и активирует фермент. Технология «горячего старта» позволяет предотвратить неспецифическую амплификацию и образование димеров праймеров.

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

- HS Taq ДНК-полимераза обладает 5′-3′ полимеразной, 5′-3′ экзонуклеазной активностью; также обладает трансферазной активностью: присоединяет дополнительный адениновый остаток к 3′ концам двуцепочечной ДНК, что позволяет использовать продукты ПЦР для ТА-клонирования.
- Состав и плотность смеси оптимизированы для непосредственного нанесения образца на агарозный гель после завершения амплификации.
- Благодаря входящим в состав смеси красителям образцы легко наносить на агарозный гель. Наличие двух красителей (бромфенолового синего и ксиленцианола) позволяет четко контролировать время электрофореза.

Возможные приложения:

Стандартная ПЦР, ОТ-ПЦР, генотипирование, ПЦР для проверки колоний, получение продукта для ТА-клонирования и др.

Совместимость с оборудованием:

Совместим с амплификаторами любого типа.

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

Перед началом работы добавьте в лиофилизированную смесь 450 мкл деионизированной воды, подождите 1 минуту, перемешайте содержимое пробирки на вортексе и сбросьте капли центрифугированием. В дальнейшем восстановленную смесь можно хранить при +4°C в течении 30 суток или заморозить и хранить в пределах срока годности при -20°C. Допускается до 5 раз замораживать/размораживать смесь после восстановления из лиофилизированной формы.

1. Разморозьте реакционную смесь, тщательно перемешайте, сбросьте капли центрифугированием.
2. 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.

- **Расчет на 1 реакцию объемом 25 мкл*:**

Компонент	Объем	Примечание
Реакционная смесь, 5×	5 мкл	
Прямой праймер	0,5–1,5 мкл 10 мкМ раствора	5–15 пмоль/реакцию (конечная концентрация 250–750 нМ)
Обратный праймер	0,5–1,5 мкл 10 мкМ раствора	
Деионизованная вода	Добавляется до общего объема реакции 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 объём 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 работать с объемом реакции менее 10 мкл не рекомендуется.

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

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

- **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
Отжиг праймеров, совмещенный с элонгацией (на этом этапе должна производиться детекция флуоресценции)	60–72°C	30–60 с	

- **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
Отжиг праймеров (на этом этапе должна производиться детекция флуоресценции)	55–59°C	10–15 с	
Элонгация	72°C	15–30 с	

6. Проанализируйте результаты ПЦР методом гель-электрофореза. Для нанесения образцов влунки геля добавление в пробу буфера для нанесения не требуется.

   Для детекции продуктов амплификации на агарозном геле используйте бромистый этидий или более чувствительные и менее токсичные красители dsGreen и dsSafe.

7. При необходимости хранить продукты амплификации при -20°C.

Условия хранения

- 12 месяцев (с момента доставки) при температуре до +4°C. Транспортировка: до 21 суток при температуре до +25°C.
- После восстановления в жидкую форму – хранить при +4°C до 30 суток или при -20°C в пределах срока годности. Продукт в жидкой форме не теряет функциональных свойств после 5 циклов заморозки-разморозки.
- 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