Lumiprobe
Life science solutions

# Амплификация ДНК с реакционной смесью для ПЦР ProbeMaster® GEL UDG, 5×

ProbeMaster® GEL UDG — готовая 5-кратная 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® GEL UDG подходит для амплификации ДНК с последующей детекцией результатов методом электрофореза. Урацил-ДНК-гликозилаза при этом исключает контаминацию ампликонами от предыдущих реакций и получение ложноположительных результатов, что особенно актуально при проведении электрофореза ампликонов. Из-за содержания dUTP смесь не подходит для задач, в которых необходимо использовать в дальнейшем продукты амплификации. Для таких задач мы рекомендуем использовать наш продукт ProbeMaster® GEL.

## Состав реакционной смеси:

- HS Taq ДНК-полимераза;
- урацил-ДНК-гликозилаза (UDG);
- смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов (включая dUTP);
- ПЦР-буфер (содержит $Mg^{2+}$ с концентрацией 3 мМ в 1× реакционной смеси);
- красители для нанесения на гель.

## Ключевые характеристики смеси:

- Объём 5-кратной смеси 500 мкл рассчитан на проведение 100 реакций по 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.
- Урацил-ДНК-гликозилаза исключает контаминацию ампликонами от предыдущих реакций и получение ложноположительных результатов, что особенно актуально при проведении электрофореза ампликонов.
- 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., а также кДНК, полученная при обратной транскрипции.
- 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**
201 International Circle, Suite 135
Hunt Valley, Maryland 21030
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

- 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:

ПЦР с детекцией продуктов амплификации с помощью гель-электрофореза, ПЦР после обратной транскрипции.

## Совместимость с оборудованием

Совместима с амплификаторами любого типа.

## Протокол

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* | |
| ДНК | 2–9 мкл (кДНК, 50–100 нг геномной ДНК, 1–100 пг плазмидной ДНК) | Добавляется отдельно в каждую пробирку (см. п.3) |
| **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.

**Lumiprobe Corporation**
201 International Circle, Suite 135
Hunt Valey, Maryland 21030
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

3. В пробирки для ПЦР внесите готовую смесь без учета объема образца ДНК. Образцы ДНК внесите отдельно в каждую пробирку, сбросьте капли центрифугированием.
4. 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 |
| 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 | |

5. Проанализируйте результаты ПЦР методом гель-электрофореза. Для нанесения образцов в лунки 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*.*
6. При необходимости хранить продукты амплификации при -20°C.

## Условия хранения

- Транспортировка/Хранение: при температуре не выше -20°C — 12 месяцев в пределах срока годности. При температуре от 0 до +25°C — 5 дней в пределах срока годности.
- Число циклов замораживания/размораживания: не более 20.
- Срок годности: 12 месяцев с даты поставки, если иное не указано в паспорте товара.

**Lumiprobe Corporation**
201 International Circle, Suite 135
Hunt Valey, Maryland 21030
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