

ProbeMaster qPCR mix, 2x (with ROX, UDG)

<http://www.lumiprobe.com/p/probemaster-mix-rox-udg>

Смесь для кПЦР ProbeMaster ROX+UDG подходит для точного определения содержания ДНК матрицы в пробе и может применяться для определения уровня копийности и экспрессии генов, генотипирования и детекции SNP, и др. Готовая 2-х кратная реакционная смесь содержит все необходимые компоненты для проведения количественной ПЦР, ее состав оптимизирован для получения идеальных результатов с минимальным значением порогового цикла и высоким уровнем отношения сигнал/фон. Смесь ProbeMaster позволяет решить большое количество задач с минимальными затратами времени. Полимераза с технологией "горячего старта" предотвращает неспецифическую амплификацию, а урацил-ДНК-гликозилаза* исключает кросс-контаминацию и получение ложноположительных результатов. 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](#) (dsGreen). Нормировка сигнала осуществляется с помощью входящего в состав смеси референсного красителя ROX - реагента производства Lumiprobe. Концентрация ROX была специально оптимизирована для работы на большинстве real-time амплификаторов, доступных на рынке. Для постановки реакции просто смешайте в пробирке смесь для кПЦР ProbeMaster, праймеры, зонд/интеркалирующий краситель, ДНК и воду. 1 мл реакционной смеси рассчитан на проведение 100 реакций объемом 20 мкл.

Формат ПЦР: количественная ПЦР (ПЦР-PB) с применением интеркалирующих красителей или гидролизующих зондов

Состав реакционной смеси: HS Taq ДНК-полимераза, смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов (включая dUTP), урацил-ДНК-гликозилаза (UDG), ПЦР-буфер (содержит Mg²⁺), референсный краситель ROX

Совместимость с оборудованием: совместим с большинством real-time амплификаторов, в том числе производства Applied Biosystems (7300, 7500, 7500 Fast, 7900HT, QuantStudio 12k Flex, QuantStudio 3, QuantStudio 5, QuantStudio 6 Flex, QuantStudio 7, StepOne, StepOnePlus, ViiA 7 System), Bio-Rad (CFX384, CFX 96, iQ5), Roche (LC 480), Stratagene (MX3000P, MX3005P, MX4000) и др.

Ключевые характеристики смеси:

- Для постановки реакции в смесь необходимо добавить интеркалирующий краситель или зонд для детекции продукта амплификации, образец ДНК, праймеры и воду.
- Референсный краситель ROX позволяет нормировать интенсивность флуоресценции зондов и интеркалирующих красителей типа dsGreen.
- В состав смеси входят урацил-ДНК-гликозилаза (UDG) и dUTP для предотвращения кросс-контаминации продуктами реакции.**
- 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.
- Формат готовой реакционной смеси снижает риск контаминации образцов.
- В состав реакционной смеси входит Taq-полимераза с технологией "горячего старта" (Hot Start). 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.
- HS Taq ДНК-полимераза обладает 5'-3' полимеразной, 5'-3' экзонуклеазной, аденилтрансферазной активностью.

*Мы также предлагаем реакционную смесь, не содержащую урацил-ДНК-гликозилазу (UDG) и dUTP - [ProbeMaster ROX qPCR mix](#).

**при полной замене dTTP на dUTP в реакционной смеси, все ПЦР-ампликоны содержат вместо тимина (Т) урацил (U). Урацил-ДНК-гликозилаза отщепляет основания урацила от сахарофосфатного остова одно- и двуцепочечной ДНК,

но не воздействует на тимин-содержащую ДНК. Апириимидиновые сайты блокируют работу ДНК-полимеразы и подвержены гидролитическому расщеплению при повышенной температуре. Для работы фермента необходимо включить в протокол стадию предобработки образца в виде дополнительного цикла ПЦР (5 мин, 50 °С). Последующая температурная инактивация урацил-ДНК-гликозилазы, а также разрушение ампликонов с выщепленным урацилом осуществляется на стадии предварительной денатурации ДНК.

Таблица подбора мастер микса для ПЦР

Название смеси	Реакционные смеси для количественной ПЦР (ПЦР-РВ)			Применение
	dsGreen	ROX	UDG, dUTP	
ProbeMaster ROX+UDG qPCR mix Cat.# •5214	—	✓	✓	кПЦР с ДНК-зондами или интеркалирующим красителем
ProbeMaster ROX qPCR mix Cat.# •5114	—	✓	—	
ProbeMaster dsGreen+ROX qPCR mix Cat.# •5514	✓	✓	—	кПЦР с интеркалирующим красителем
All-in-one qPCR master mix Cat.# •5414	✓	✓	✓	
All-in-one no ROX qPCR master mix Cat.# •5314	✓	—	✓	
Реакционная смесь для стандартной ПЦР				
Basic PCR master mix Cat.# •5024	—	—	—	ПЦР с последующим анализом методом гель-электрофореза, содержит краситель для нанесения на гель
Универсальная реакционная смесь				
PCR/qPCR master mix Cat.# •5534	—	—	—	кПЦР с ДНК-зондами/интеркалирующим красителем или стандартная ПЦР с последующим анализом методом гель-электрофореза

General properties

Legal statement: This Product is offered and sold for research purposes only. It has not been tested for safety and efficacy in food, drug, medical device, cosmetic, commercial or any other use. Supply does not express or imply authorization to use for any other purpose, including, without limitation, in vitro diagnostic purposes, in the manufacture of food or pharmaceutical products, in medical devices or in cosmetic products.