



Общество с ограниченной ответственностью
«Биолабмикс»
ИНН 5408278957 КПП 540801001
630090, Новосибирская обл., г. Новосибирск,
ул. Инженерная, дом № 28
Tel/Fax: +7(383)363-51-91, Tel: +7(383)363-22-40
E-mail: sales@biolabmix.ru

БиоМастер LAMP SYBR (2×)

Кат. номер МН050-400, МН050-2040

Описание:

Набор БиоМастер LAMP SYBR (2×) содержит 2× реакционную смесь БиоМастер LAMP SYBR (2×), и стерильную воду. 2× реакционная смесь БиоМастер LAMP SYBR (2×) предназначена для проведения петлевой изотермической амплификации (LAMP) в режиме реального времени с использованием флуоресцентного красителя SYBR Green I. В состав БиоМастер LAMP SYBR (2×) входят все необходимые компоненты реакции (исключая ДНК-матрицу и праймеры):

- высокопроцессивный рекомбинантный большой фрагмент (LF) *Bst* ДНК-полимеразы
- смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов
- буфер
- Mg^{2+} (6 мМ)
- SYBR Green I
- инертный краситель.

Смесь оптимизирована для проведения эффективной и воспроизводимой LAMP с в режиме реального времени с образцами геномной, плазмидной и вирусной ДНК. В состав смеси входят добавки, повышающие время полужизни и процессивность *Bst* LF ДНК-полимеразы за счет повышения её стабильности во время реакции.

Представленная форма набора для проведения ПЦР экономит время и снижает вероятность контаминации за счет малого числа шагов пипетирования. Инертный краситель в составе БиоМастер LAMP SYBR (2×) окрашивает её в голубой цвет и облегчает контроль за раскапыванием смеси при использовании многолуночных планшетов.

Состав набора:

Каталожный номер	БиоМастер LAMP SYBR (2×)	Вода	Кол-во реакций по 25 мкл
МН050-400	4 × 1.25 мл	4 × 1.25 мл	400
МН050-2040	17 × 1.5 мл	3 × 1.8 мл	2040

Состав БиоМастер LAMP SYBR (2×):

100 мМ Трис-НCl, pH 8.9, 20 мМ KCl, 2 мМ каждого нуклеозидтрифосфата, 12 мМ $MgCl_2$, 0.06 ед. акт./мкл *Bst* LF ДНК-полимеразы, 0,5% Tween 20, стабилизаторы *Bst* LF ДНК-полимеразы, SYBR Green I, инертный краситель.

Область применения:

- петлевая изотермическая амплификация в режиме реального времени с использованием интеркалирующего красителя SYBR Green I
- петлевая изотермическая амплификация с детекцией по конечной точке

Свойства полимеразы

LF Bst ДНК-полимеразы представляет собой большой фрагмент Bst (*Bacillus stearothermophilus*) полимеразы (полипептид 67 кДа), выделенный из штамма *E.coli*, несущего модифицированный клонированный ген. Фермент обладает 5' → 3' - полимеразной активностью, но не обладает 5' → 3' и 3' → 5' -экзонуклеазной активностью, что позволяет использовать его для проведения изотермальной амплификации, в том числе петлевой изотермальной амплификации (LAMP – Loop-Mediated Isothermal Amplification). LF Bst ДНК-полимеразы обладает высокой ДНК-цепь вытесняющей активностью и может применяться для изотермической амплификации ДНК. Наибольшую активность фермент проявляет в температурном диапазоне 60–65° С.

SYBR Green I

SYBR Green I – флуоресцентный интеркалирующий краситель для количественной и качественной детекции ПЦР-продуктов в ходе ПЦР в режиме реального времени. SYBR В ходе амплификации краситель SYBR Green I встраивается в малую бороздку ДНК ПЦР-продуктов и испускает более сильный по сравнению с несвязанным красителем флуоресцентный сигнал. Максимумы поглощения и испускания SYBR Green I 494 нм и 521 нм, соответственно, что позволяет использовать его со всеми известными на сегодняшний день приборами для проведения ПЦР в режиме реального времени.

Инертный краситель

Инертный краситель в составе БиоМастер LAMP SYBR (2x) не снижает эффективность ПЦР и помогает контролировать процесс раскапывания многолуночных планшетов. Максимум абсорбции голубой краски соответствует 615 нм.

Преимущества использования

- Смесь окрашена для облегчения раскапывания;
- Сокращается время на подготовку реакции;
- Снижается вероятность контаминации при смешивании компонентов ПЦР;
- Стандартизируются условия постановки однотипных реакций (снижается погрешность при смешивании компонентов ПЦР в разных экспериментах).

Протокол проведения амплификации

1. Разморозить реакционную смесь и тщательно перемешать. Рекомендуем использовать лёд или охлажденный термостатив для постановки реакции.

2. В тонкостенные пробирки для ПЦР добавить следующие компоненты из расчета объема одной реакционной смеси 25 мкл:

Компонент	Объем	Конечная концентрация
БиоМастер LAMP SYBR (2x)	12,5	1x
Смесь праймеров	переменный	1– 2 мкМ
ДНК-матрица	переменный	100 пг – 1 мкг
Стерильная вода	до 25 мкл	1x

3. Осторожно перемешать и сбросить капли, используя центрифугу.
4. Реакцию проводить при температуре 65°C. Для мониторинга в режиме реального времени можно использовать соответствующий амплификатор с программой: 65°C – 50 сек и снятием сигнала при каждом цикле, длительностью 30–40 циклов

Условия хранения:

Хранить в месте, защищенном от попадания света при –20°C – 18 месяцев; не более 50 циклов замораживания–размораживания.

Условия транспортировки:

Транспортировать в термоконтейнерах с охлаждающими элементами, допускается повышение температуры до температуры окружающей среды при транспортировке до 10 дней