

**2,5X Mas<sup>EG</sup>MIX -0025**Для исследовательских работ *in vitro***МастерМИКС<sup>EG</sup> для "real-time" ПЦР и HRM**

Кат.№	Количество
MEG-1-50	50 реакций
MEG-1-100	100 реакций

Качество МастерМикса гарантируется на протяжении не менее 1 года, при хранении всех реактивов при -20°C

**Хранить МастерМикс , содержащий Eva Green, в темноте.**

**Внимание!**

При длительном хранении МастерМикса возможно выпадение осадка.

Перед использованием необходимо выдержать МастерМикс при комнатной температуре до полного растворения преципитата (~30 мин.).

**МастерМИКС<sup>EG</sup> содержит высококачественные реактивы для "real-time" ПЦР амплификации ДНК различной природы.**

**Описание:**

**МастерМИКС<sup>EG</sup>** рекомендуется для проведения "real-time" амплификации ДНК, выделенной из различных природных источников.

**МастерМИКС<sup>EG</sup>** набор ПЦР реагентов , содержащий флуоресцентный краситель **Eva Green** (не ингибирующий ПЦР), стабилизатор/энхансер, усиливающий термостабилизацию фермента при повышенных температурах, улучшающий специфичность и чувствительность ПЦР.

Основой **МастерМИКСа** является термостабильная **"hot-start" полимеразы SmarTaq**, позволяющая амплифицировать низкокопийные ДНК матрицы, сложные последовательности ДНК. **МастерМИКС** может применяться в **"real-time" ПЦР, HRM – экспериментах, мультиплекс-ПЦР.**

**МастерМИКС<sup>EG</sup>** не содержит **MgCl<sub>2</sub>**

\* При проведении амплификации возможно может потребоваться оптимизация концентрации Mg<sup>2+</sup>

25мкл ПЦР реакция		Конечные концентрации
10 мкл.	МастерМИКС <sup>EG</sup>	<b>1X</b>
0,5-1,5мкл	50mM MgCl <sub>2</sub>	<b>1.5-3.0mM</b>
0,2-1,0мкМ	Праймеры	
10-100нг <sup>1)</sup>	ДНК матрица	
0.5мкл <sup>2)</sup>	50X ROX	1X
До 25мкл	Стерильная вода	

1)- Объем ДНК матрицы зависит от метода выделения и ее концентрации в исходном образце.

2)-При использовании приборов для "real-time" , в которых необходимо использовать референсный краситель.

**Условия амплификации (стандартные)**

Начальная денатурация	<b>94°C</b>	<b>2-3мин.</b>	<b>1X</b>
Денатурация	<b>94°C</b>	<b>15-30 сек</b>	
Отжиг <sup>1)</sup>	<b>55-68°C</b>	<b>15-30 сек.</b>	<b>30-40X</b>
Элонгация <sup>2)</sup>	<b>72°C</b>	<b>30сек</b>	

1)-Температура отжига праймеров зависит от расчетной температуры их «плавления».

2)-Время элонгации зависит от длины амплифицируемого фрагмента. Для фрагментов длиной до 500 н.п. рекомендованное время 30 сек.

**МастерМИКС<sup>EG</sup>**

**SmarTaq** полимеразы dA,dT,dC,dG -200µM каждого

Реакционный буфер

MgCl<sub>2</sub> –0 mM

**(1X конечная концентрация)**

Стабилизатор/энхансер

Краситель **Eva Green-1X**

Стерильная вода для ПЦР -5мл

(прозрачная крышка)

**Для получения оптимальных результатов необходимо проведение оптимизации условий для каждой новой пары «праймер-матрица».**

**При проведении эксперимента необходимо использовать программу, соответствующую Sybr Green I или FAM без дальнейшей модификации.**