

InBlood ДНК-полимераза

Кат. ## PK132S, PK132L

Версия 1 от 29 декабря 2025 г.

InBlood ДНК-полимераза — генетически модифицированная рекомбинантная Taq-полимераза. Фермент обладает повышенной устойчивостью к ингибирующим компонентам крови (гемоглобин, лактоферрин, иммуноглобулин G).

InBlood ДНК-полимераза позволяет проводить ПЦР с цельной кровью и лейкоцитами млекопитающих без предварительного выделения ДНК.

Только для использования в научно-исследовательских целях.

Состав

Компонент	PK132S 200 р-ций по 50 мкл	PK132L 1 000 р-ций по 50 мкл
50X InBlood DNA polymerase	200 мкл	1 мл (5 x 200 мкл)
10X InBlood buffer	1 мл	5 мл (5 x 1 мл)

Условия хранения и транспортировки

Хранение и транспортировка: –20 °С.

Срок годности: 12 месяцев с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

Область применения

Аmplификация ДНК с последующим анализом ПЦР-продукта с помощью гель-электрофореза.

Основные характеристики

- Без «горячего старта».
- Оптимальная температура работы: 72 °С.
- Отсутствует 3'→5' экзонуклеазная (корректирующая) активность.
- Длина амплифицируемых фрагментов до 1 000 п.о. для ДНК, содержащей менее 65% GC-участков, и до 500 п.о. для ДНК, содержащей более 65% GC-участков.

Биологический материал

Характеристика	Значение
Тип биоматериала	Цельная кровь млекопитающих с антикоагулянтами: – ЭДТА; – цитрат натрия; – гепарин. Лейкоцитарная фракция из крови млекопитающих
Количество биоматериала на реакцию	2–10%, в зависимости от типа биоматериала
Условия хранения биоматериала	Цельная кровь млекопитающих: от +2 до +8 °С не более 1 недели; от –25 до –15 °С не более 1 года. Лейкоцитарная фракция из крови млекопитающих: +4 °С не более 3 часов; –20 °С не более 1 месяца.

Протокол

1. Подготовка биоматериала

- 1.1. Цельная кровь млекопитающих не требует специальной подготовки.
- 1.2. Подготовьте лейкоцитарную фракцию одним из методов, описанных в *"Рекомендации по получению лейкоцитарной фракции из крови млекопитающих"*.

2. Проведение ПЦР

- ▶ При постановке ПЦР соблюдайте зонирование помещений. Разделите зоны для приготовления реакционной смеси, внесения матрицы, проведения ПЦР и анализа ПЦР-продукта.
- 2.1. Разморозьте при комнатной температуре все компоненты для ПЦР, кроме полимеразы. Перемешайте их содержимое на вортексе, сбросьте капли кратким центрифугированием.

2.2. Приготовьте реакционную смесь:

- объем реакции: 50 мкл;
- для избежания погрешности дозаторов и дополнительных разведений компонентов реакции рекомендуется рассчитывать реакционную смесь минимум на 4 образца;
- в процессе работы все компоненты и пробирку с реакционной смесью держите во льду или в охлажденном штативе;
- предварительно выберите реакционный буфер:
 - 10X InBlood buffer (поставляется в комплекте с полимеразой). Для анализа ПЦР-продукта с помощью гель-электрофореза рекомендуется использовать 4X Gel Loading Dye, Blue (кат. # PB020, Евроген).
 - 5X InBlood Red buffer (кат. # PB027, Евроген) — для анализа ПЦР-продукта на агарозном геле без добавления специального буфера для нанесения проб.
- при работе с фрагментами ДНК, в составе которых более 50% GC-участков, в реакционную смесь рекомендуется добавлять DMSO (до 10%) и/или бетаин (до концентрации 0.5–1 М).

Компонент	Количество для реакции объемом 50 мкл
Вода деионизированная, свободная от нуклеаз	36 мкл (объем зависит от количества биоматериала, см. п. 2.6)
Буфер	5–10 мкл (в зависимости от кратности буфера)
Праймер 1 (10 мкМ)	1 мкл
Праймер 2 (10 мкМ)	1 мкл
dNTP (10 мМ каждого)*	1 мкл
50X InBlood DNA polymerase	1 мкл

* Рекомендуется использовать смесь dNTP (10 мМ каждого), например, кат. ## PB006S/L, Евроген).

2.3. Аккуратно перемешайте реакционную смесь на вортексе, сбросьте капли кратким центрифугированием.

2.4. Разнесите реакционную смесь в пробирки для ПЦР.

2.5. Подготовьте биоматериал: тщательно перемешайте до однородности.

2.6. Внесите биоматериал в пробирки для ПЦР:

- 2–5 мкл цельной крови с ЭДТА или цитратом натрия;
- 1–3 мкл цельной крови с гепарином;
- 2–5 мкл лейкоцитарной фракции.

2.7. При использовании амплификатора без нагревающейся крышки наложите поверх реакционной смеси минеральное масло.

2.8. Установите пробирки в амплификатор. Запустите программу, следуя рекомендациям:

Предварительная денатурация	94 °C	5 мин
	94 °C	30 с
Циклы ПЦР (оптимизировать)	T _m *	30 с
	72 °C	от 15 с, зависит от длины ПЦР-фрагмента
Финальная достройка цепи	72 °C	2–10 мин

* T_m — температура отжига праймеров.

- Рекомендуемое количество циклов: от 25 до 35.
- Скорость элонгации 1 т.п.о. за 30 секунд. Режим амплификации может отличаться для разных моделей термоциклеров.
- Финальная достройка цепи не является обязательной стадией; она используется для завершения процесса дупликации одноцепочечных фрагментов (например, при препаративной наработке ДНК).

2.9. Для анализа ПЦР-продукта необходимо:

- перемешать содержимое пробирок на вортексе и сбросить капли центрифугированием в течение 2–5 минут;
- нанести на агарозный гель прозрачный супернатант.

Возможно приобрести дополнительно

Кат. #	Продукт	Количество
PB006S	Смесь dNTP (10 мМ каждого)	200 мкл, 2 мкмоль
PB006L		2 мл (10 x 200 мкл), 20 мкмоль
PB020	4X Gel Loading Dye, Blue	7.5 мл (5 x 1.5 мл)
PB027	5X InBlood Red buffer	7.5 мл (5 x 1.5 мл)
PB207S	Вода деионизированная, свободная от нуклеаз	7.5 мл (5 x 1.5 мл)

ЗАО Евроген

Москва 117997

ул. Миклухо-Маклая 16/10, к. 15

Тел.: +7 (495) 784-7084

order@evrogen.ru

www.evrogen.ru