

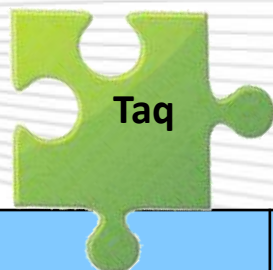












# Комплексное решение для молекулярных исследований

Ведерников Виталий Евгеньевич, к.б.н., руководитель  
группы ПЦР Лаборатории молекулярной диагностики  
ООО «Вега» ГК «Алкор Био»

<http://forpcr.ru>





Характеристики	Taq	Taq M	Taq AB	F полимеразы
Горячий старт	нет	15 мин, 95°C	1-3 мин, 95°C	нет
Тип горячего старта	-	химическая модификация в активном центре	Блокировка активного центра с помощью антител (AB)	-
Экзонуклеазная активность	5'→3'	5'→3'	5'→3'	3'→5'
Процессивность, размер продукта	в пределах 5 kbp	в пределах 5 kbp	в пределах 5 kbp	Более 10 kbp
Рекомендуемая продолжительность элонгации при 72°C для 1kbp	3 мин	3 мин	3 мин	30 сек
ПЦР в реальном времени с TaqMan пробами	+	+++	+++	-
Комплектация буферами для ПЦР	  	  	 	 
Область применения	Рутинная ПЦР	Высокоспецифичная и высокочувствительная ПЦР, мультиплексная ПЦР, ПЦР в режиме реального времени		Высокоточная ПЦР; ПЦР длинных фрагментов (>10 kbp);



# Наборы ДНК-полимераз



Тaq полимеразы



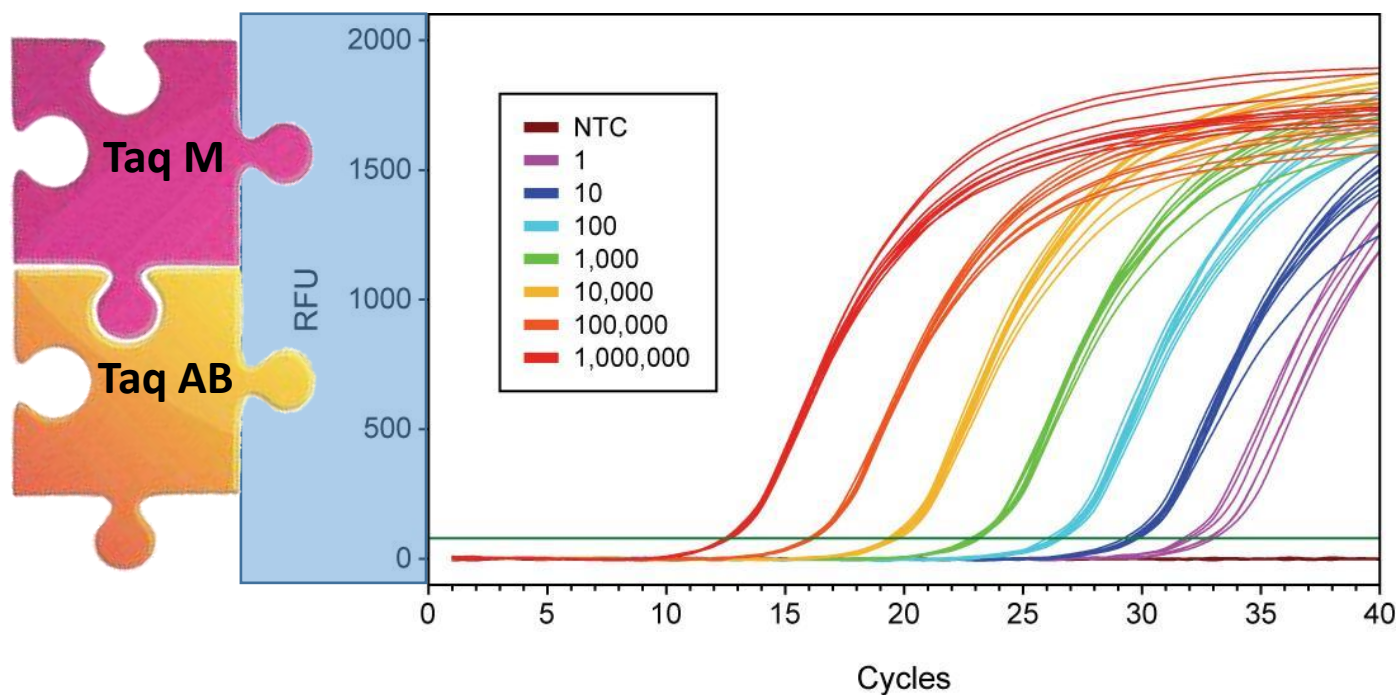
Тaq М полимеразы



Тaq АВ полимеразы

Комплект поставки: полимеразы, ПЦР-буфер, MgCl<sub>2</sub>

# ПЦР с детекцией продуктов амплификации в реальном времени





# Наборы ДНК-полимераз для ЭФ детекции



Тaq полимеразa



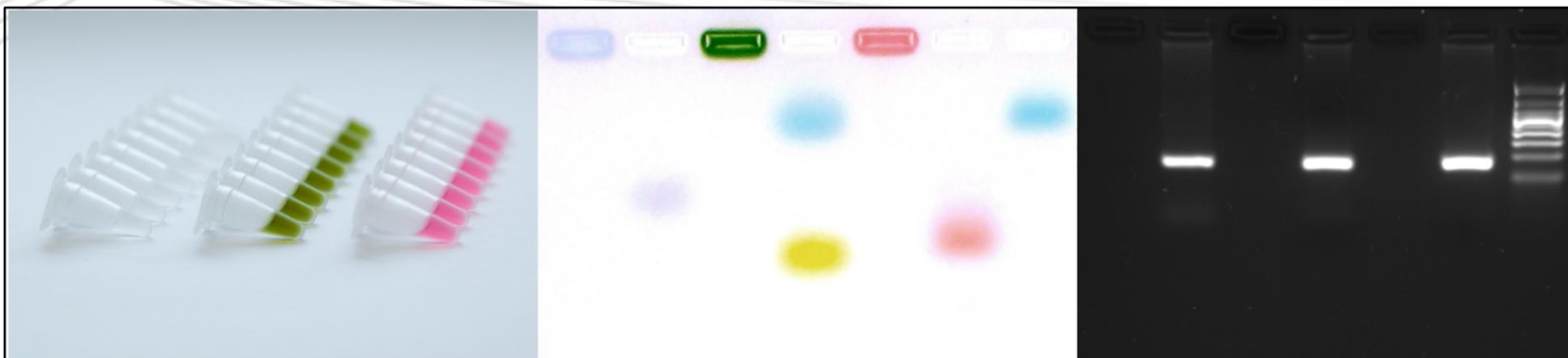
Тaq M полимеразa



Тaq AB полимеразa

Комплект поставки: полимеразa, ПЦР-буфер (окрашенный), MgCl<sub>2</sub>

# Электрофоретическая детекция с окрашенными ПЦР-буферами



прозрачный/зеленый/красный

прозрачный/зеленый/красный

прозрачный/зеленый/красный



Зеленый буфер

- краситель **синего** цвета, в 1% агарозном геле мигрирует со скоростью фрагментов ДНК размером ~400 п.о;
- краситель **оранжевого** цвета, в 1% агарозном геле мигрирует со скоростью фрагментов ДНК размером ~20 п.о;

**Внимание! Наличие красителя не влияет на ПЦР.**

**Трейсерные красители позволяют визуализировать загрузку в гель и процесс прохождения электрофореза**

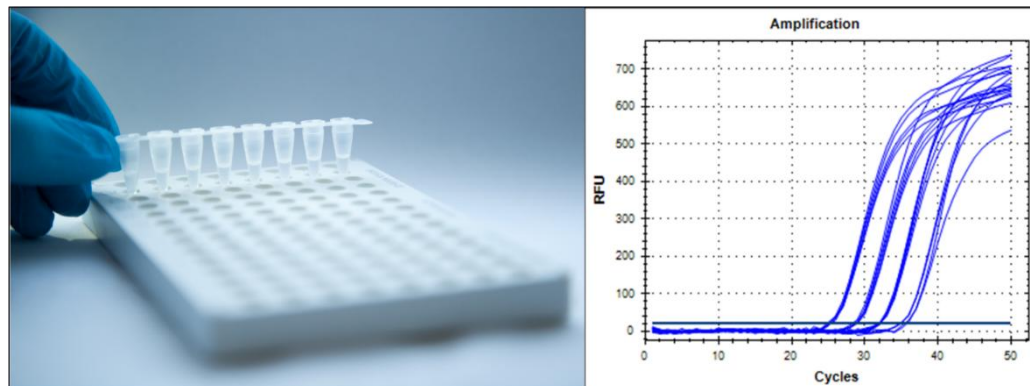
Красный буфер

- краситель **красного** цвета в 1% агарозном геле мигрирует со скоростью фрагментов ДНК размером ~50 п.о.

# Мастер-миксы на основе Taq М и Taq АВ быстро, удобно, эффективно



## Real-Time ПЦР



- **Быстро** – для приготовления ПЦР смеси нужно добавить только праймеры и ДНК-матрицу; есть формат direct load: после проведения ПЦР реакцию смесь можно напрямую наносить на электрофорез.
- **Удобно** – допустима транспортировка при комнатной температуре в течение недели
- **Эффективно** – состав оптимизирован для большинства приложений, в том числе для мультиплексной ПЦР



# Мастер-миксы на основе Taq M и Taq AB быстро, удобно, эффективно

Direct Load (Электрофоретическая детекция)



- **Быстро** – для приготовления ПЦР смеси нужно добавить только праймеры и ДНК-матрицу; есть формат direct load: после проведения ПЦР реакционную смесь можно напрямую наносить на электрофорез.
- **Удобно** – допустима транспортировка при комнатной температуре в течение недели
- **Эффективно** – состав оптимизирован для большинства приложений, в том числе для мультиплексной ПЦР

# F полимеразы



- позволяет амплифицировать фрагменты более 10000 bp;
- обладает корректирующей 3'→5' экзонуклеазной активностью, обеспечивающей высокую точность амплификации (в 50 раз точнее *Taq* полимеразы).
- 5'→3' экзонуклеазная активность отсутствует
- Скорость работы фермента в 10 раз превышает скорость работы *Pfu* полимеразы, соответственно, время элонгации может быть снижено до 15-30 сек (в зависимости от сложности матрицы) на 1 kbp.
- Дает высокий выход продуктов амплификации
- Устойчив к присутствию ингибиторов: до 15% цельной крови можно добавлять напрямую в ПЦР.
- Позволяет получать фрагменты ДНК с «тупыми» концами

# Урацил-ДНК-гликозилаза (УДГ)

катализирует высвобождение урацила из урацил-содержащих одно- или двуцепочечной ДНК, но не действует на dUTP



Один из способов борьбы с **контаминацией**

(наравне с разнесением различных этапов по зонам)

**Контаминация – попадание продуктов предыдущих ПЦР в пробирку с реакционной смесью**

(актуально для методов детекции электрофорезом, т.к. происходит открывание крышки микропробирки и перенос ампликонов)

**Следствие - ложно-положительные результаты исследований**





# Система борьбы с контаминацией на основе УДГ

## Принцип работы:

частичная или полная замена в реакционных ПЦР-смесях dTTP на dUTP, которая приводит к тому, что все получающиеся ампликоны содержат урациловые основания

УДГ выщепляет урацил из ампликонов, попавших из предыдущих амплификации

все ампликоны с урацилом, попавшие в реакционную смесь из предыдущих амплификаций, перестают быть матрицами для ДНК-полимераз

Образцы ДНК не содержат урацила, и УДГ не влияет на работу системы

# Наборы dNTP стандартные и с dUTP

Стандартная смесь для ПЦР:

Смесь dNTP
Водный раствор dATP, dTTP, dGTP и dCTP (в конечной концентрации 10 мМ каждого)
Универсальная классическая смесь dNTP, в зависимости от системы, может быть использована как 20-50хсток



Смеси для ПЦР систем с УДГ (урацил-ДНК-гликозилазой):

Смесь dNTP (AUCG)	Смесь dNTP (ATUCG)
Водный раствор dATP, dUTP, dCTP и dGTP (в концентрации по 10 мМ)	Водный раствор dATP, dGTP, dCTP в конечной концентрации 10 мМ и dUTP, dTTP в конечной концентрации 5 мМ
Идеально подходит для наработки ПЦР-фрагментов длиной не более 200 п.о.	Смесь подходит для наработки длинных ПЦР-фрагментов - более 200 п.о.

Планшетный 96-  
луночный  
ДНК-синтезатор ASM-  
2000



**Стандартные** - длина до 40 оснований, количество (1-5 ое), минимальная чистота (не ниже 90%), отсутствие сложных модификаций.

Составляют более 60 % от всего объёма синтеза. Очистка – ОФ. Время синтеза от 2 до 4 рабочих дней.

**Нестандартные** – с длиной более 40 оснований, большие количества (более 10 ое), высокая чистота (>99%), сложные модификации.

Очистка ПААГ и ВЭЖХ. Время изготовления от 5 до 7 рабочих дней.



# Синтетические олигонуклеотиды

## Модификации

FAM, JOE, R6G, TAMRA, ROX, Cy5, Алкин, Биотин, Инозин, -NH<sub>2</sub>

## Флуоресцентные зонды

FAM-BHQ1, JOE-BHQ1, R6G-BHQ1/2, TAMRA-BHQ2, Cy5-BHQ2, ROX-BHQ2

Название	Последовательность	Модиф.	Кол-во о.е.	нмоль	V(H2O) мл, для 100 µM
22	caactggtgtaaaccaatagt	0	17,6	63,9	639
253	gcacagattctgagtaaccatact	0	19,5	67,1	673
92	ccctctggagaagaactggtacg	0	14,7	50	500
93	tagagacatctttctgactatga	0	14,4	49,3	493
86	cgcgattatctagccataggct	0	14,4	49,3	493
87	aagagcattaattatctgccaat	0	14,4	49,3	493
109	gagaactgtagtgtaagta	0	14,4	49,3	493
110	caaaagaccctgtgctct	0	14,4	49,3	493
84	aaagcctcagaacac	0	14,4	49,3	493
85	accagtaaatctga	0	14,4	49,3	493
9	gagtgtaactctga	0	11,5	48,5	485
275	ctcctcctcctgctgatga	0	9,5	369	369
28	gcaaaccaagtc	0	12,1	449	449
214	gcctcctcagc	0	12,1	449	449
88	catggagc	0	64,3	643	643
89	goggggc	0	73,7	737	737
67	actactoga	0	53,2	532	532
213	attctagat	0	14,6	56	560
90	tgactctaaattcagtgacttg	0	13,5	51	510
91	gatcttgaataagcctagactg	0	15,7	58,5	585
105	cttggttaactccttgatatacttg	0	16,4	58,6	586
106	ttcttgagcccatgagat	0	16,4	58,6	586
66	tccttgaccatttagtgc	0	13,9	51,7	517
25	tgctctcggtagaattct	0	13,9	51,7	517



## Очистка олигонуклеотидов:

- ОФ картриджи – чистота не менее 90-95% (используется для «стандартных» олигонуклеотидов).
- ПААГ электрофорез – чистота не менее 98 - 99 % (используется для длинных и модифицированных олигонуклеотидов).
- ВЭЖХ – чистота не менее 99% (для модифицированных олигонуклеотидов).



# Экстра-ДНК-Био



Принцип действия набора заключается в обработке биологического образца лизирующим буфером с последующим спиртовым осаждением.

## Характеристики набора:

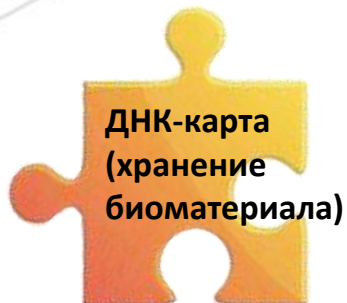
- ✓ Рассчитан на выделение ДНК из 96 образцов
- ✓ Подходит в том числе для выделения ДНК из сухих пятен крови
  - **Нужны дополнительные компоненты: Протеиназа К и СПК-буфер для предварительной обработки**
- ✓ Длительность процедуры выделения 35-40 минут
- ✓ Все реагенты жидкие и готовы к использованию
- ✓ Срок годности - 12 месяцев
- ✓ Температурный режим хранения 2 - 8°C



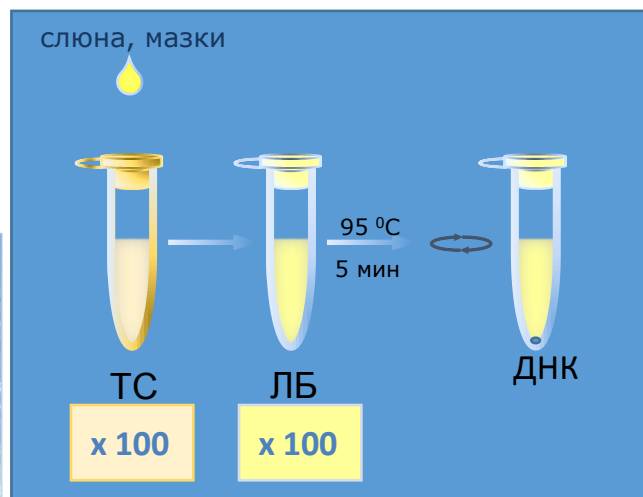


# ДНК-карта

## Карта для сбора биоматериала



# Экспресс-ДНК-Био







<http://forpcr.ru>

(812) 677-65-35 forpcr@alkorbio.ru www.alkorbio.ru

ГРУППА КОМПАНИЙ  
**АЛКОР БИО**

Компания Олигосинтез Каталог Услуги Инфо

**ОЛИГОСИНТЕЗ**



БЫСТРО



ТОЧНО



КАЧЕСТВЕННО

## Сайт молекулярно-генетического направления группы компаний Алкор Био

### На этом сайте Вы можете:

1. Заказать синтез праймеров и флуоресцентных зондов
2. Приобрести Taq ДНК полимеразы и другие ферменты для ПЦР
3. Приобрести готовые ПЦР-смеси
4. Приобрести наборы для выделения ДНК и ДНК-карты
5. Заказать разработку тест-систем

**Мы стремимся обеспечить Вас продукцией высокого качества по доступным ценам!**

### Новости

**Внимание!**



**Внимание! Крайние обновления в прайсе**

Обновился прайс-лист на продукты для молекулярно-генетических исследований.

20.09.2016 13:39:00



**ДНК-карта для сбора и хранения образцов производства Алкор Био прошла регистрацию в Росздравнадзоре!**

Карта для сбора образцов биоматериала – "ДНК-карта" – производства ГК Алкор Био прошла регистрацию в Росздравнадзоре РФ

16.09.2016 13:47:00



**Спасибо за внимание!**