



New enzymes
for DNA technologies

SibEnzyme

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор для GLAD-ПЦР анализа

Каталожные номера **K009S, K009L, K010/1, K010/3, K010/5, K010/32**

Ключевая информация

- Набор предназначен для определения метилированных сайтов в ДНК человека и млекопитающих
- Набор позволяет определить наличие и количество исследуемого сайта R(5mC)GY в заданной точке анализируемой ДНК путем сравнения с калибровкой
- Для проведения анализа должны быть подобраны праймеры и зонд для определяемого сайта
- Набор также включает все реагенты, необходимые для проведения контрольных экспериментов и получения калибровки
- Анализ проводится менее чем за 4 часа в 3 стадии: гидролиз ДНК, пришивка адаптера и ПЦР
- **НЕ ТРЕБУЕТ БИСУЛЬФИТНОЙ КОНВЕРСИИ ДНК**

Оглавление

Состав набора.....	2
Описание метода	3
Протокол проведения GLAD-ПЦР-анализа	4
Приложение 1: Протокол определения сайта A(5mC)GT в регуляторной области гена URB1 и сайта G(5mC)GC в регуляторной области гена SEBPD[4].....	6
Приложение 2: Протокол получения калибровочной прямой для определения количества копий ДНК, содержащих сайт A(5mC)GT в регуляторной области гена URB1[4].....	8
Приложение 3: Последовательности гибридных праймеров.....	10
Список литературы.....	10
Информация для заказа.....	11
Услуги	11

Адрес в интернет

<http://russia.sibenzyme.com/products/sets>



Состав набора

Набор для GLAD-ПЦР анализа		K009S 200 р-ций	K009L 1000 р-ций	K010/1 ¹ , K010/3, K010/5, K010/32
1	10X TE буфер	200 мкл	1 мл	1 мл
2	10X SE TMN буфер	150 мкл	750 мкл	150 мкл
3	ДМСО	35 мкл	175 мкл	35 мкл
4	БСА, 10 мг/мл	70 мкл	350 мкл	70 мкл
5	GlaI (20 е.а./мкл)	10 мкл	35 мкл	10 мкл
6	Универсальный адаптер, двухцепочечный (10μM)	110 мкл	550 мкл	110мкл
7	АТФ, 10 мМ	110 мкл	550 мкл	110 мкл
8	T4 ДНК лигаза (200 е.а./мкл)	100 мкл	450 мкл	100 мкл
9	10X SE GLAD буфер	430 мкл	2200 мкл	430 мкл
10	MgCl ₂ , 50 мМ	120 мкл	600 мкл	120 мкл
11	Смесь четырех dNTP, 10 мМ каждый	90 мкл	450 мкл	90 мкл
12	SP Taq ДНК Полимераза, 5 е.а./мкл	40 мкл	200 мкл	40 мкл
13	Контрольная ДНК Raji, 18 нг/мкл	10 мкл	50 мкл	10 мкл
14	Контрольная ДНК HeLa, 18 нг/мкл	10мкл	50 мкл	10 мкл
15	Контрольная ДНК фага λ, 18 нг/мкл	25 мкл	125 мкл	25 мкл
16	Контрольная смесь для URB1 (праймеры и флуоресцентный зонд), 10 μM каждый	40 мкл	40 мкл	40 мкл
17	Контрольная смесь для SEBPD (праймеры и флуоресцентный зонд), 10 μM каждый	15 мкл	15 мкл	15 мкл
18	Гибридные праймеры ¹ , (10 μM)	—	—	N пробирок по 170 мкл

Срок годности реагентов в составе набора – 1 год с даты производства. Условия хранения: **-20°C**

Все партии реагентов проходят контроль качества, с сохранением контрольного образца.

Набор для GLAD-ПЦР анализа компании СибЭнзайм содержит все реагенты, необходимые для анализа любого сайта R(5mC)GY в геноме человека или млекопитающего за исключением праймеров и флуоресцентных зондов. Последовательности праймеров и зондов должны соответствовать структуре региона, прилегающего к исследуемому сайту R(5mC)GY.

Смеси праймеров и зондов для GLAD-ПЦР анализа двух сайтов R(5mC)GY в геноме человека приложены для демонстрации возможностей применения метода.

1. Контрольная смесь для URB1 (праймеры и флуоресцентный зонд) (п.16) предназначена для анализа сайта A(5mC)GT в регуляторной области гена *URB1*. Позиция сайта (в соответствии с геномной сборкой GRCh38/hg38) - 32334291-32334294 в 21 хромосоме.
2. Контрольная смесь для SEBPD (праймеры и флуоресцентный зонд) (п.17) предназначена для анализа сайта G(5mC)GC в регуляторной области гена *SEBPD*. Позиция сайта (в соответствии с геномной сборкой GRCh38/hg38) - 47738502-47738505 в 8 хромосоме.

* При заказе вы можете выбрать 1, 3, 5 гибридных праймера из списка (см. Приложение 3) или заказать полный комплект из 32 гибридных праймеров

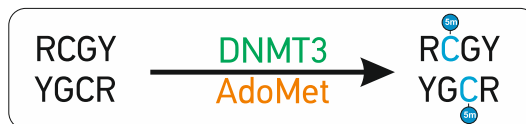
Описание метода

На сегодняшний день для начальных стадий ряда заболеваний (таких как онкологические заболевания, ишемическая болезнь сердца, диабет и пр.) было показано наличие aberrантного (аномального) метилирования регуляторных областей значительного числа генов.

Такое aberrантное метилирование регуляторных областей генов *de novo* осуществляется ДНК метилтрансферазами DNMT3A и DNMT3B, которые узнают и метилируют сайт 5'-RCGY-3' с образованием последовательности 5'-R(5mC)GY-3'/3'-YG(5mC)R-5'[1].

Недавно открытая метилзависимая ДНК эндонуклеаза Glal узнает и расщепляет именно эту последовательность 5'-R(5mC)↑GY-3'/3'-YG↑(5mC)R-5' с образованием тупых концов как указано стрелками [2].

GLAD-ПЦР анализ основан на использовании метилзависимой ДНК эндонуклеазы Glal [3].



Метод включает три последовательных этапа:

1. Гидролиз ДНК метилзависимой ДНК эндонуклеазой Glal.
2. Сшивку фрагментов с универсальным адаптером.
3. ПЦР в реальном времени с детекцией в FAM канале. (Структура геномного праймера и зонда соответствует последовательности ДНК, расположенной рядом с анализируемым сайтом 5'-RCGY-3', структура гибридного праймера соответствует структуре универсального адаптера).

ПЦР продукт нарабатывается только в случае наличия сайта R(5mC)GY в интересующей точке.

GLAD-ПЦР анализ был разработан для определения минимального количества метилированных сайтов 5'-R(5mC)GY-3'/3'-YG(5mC)R-5' в образцах с избыточным количеством неметилированных сайтов в заданной точке ДНК. Данная ситуация является типичной для клинических образцов, таких как кровь и биоптаты.

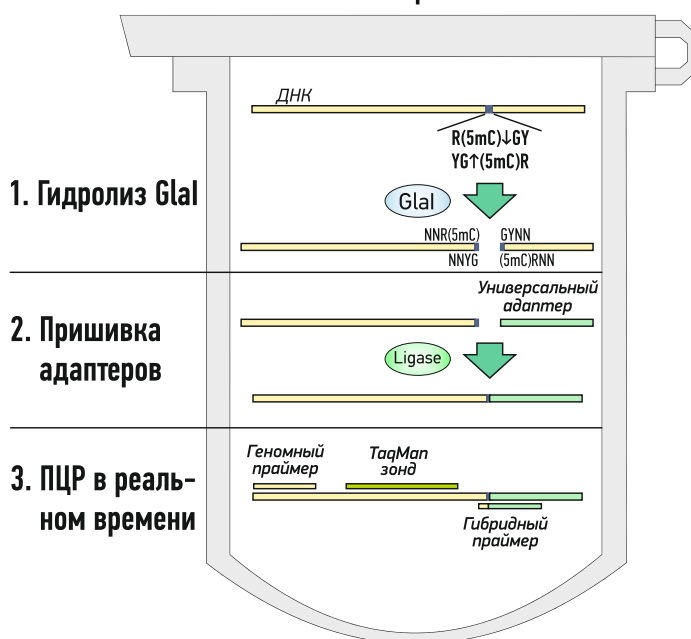
Метод позволяет определить метилирование сайта 5'-RCGY-3' в заданной точке генома человека или млекопитающих.

Анализ осуществляется в одной пробирке в течение 3-4 часов и позволяет определить наличие в образце нескольких молекул ДНК, содержащих метилированный сайт в заданной точке генома.

В сравнении с другими методами определения метилирования ДНК GLAD-ПЦР анализ имеет ряд преимуществ:

- Простота – 3 несложных последовательных этапа

GLAD-ПЦР анализ



1. Гидролиз Glal

2. Пришивка адаптеров

3. ПЦР в реальном времени

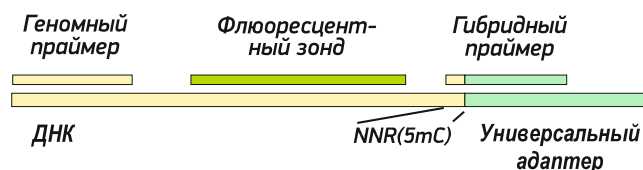
- Скорость проведения – всего 3-4 часа
- Высокая чувствительность – позволяет определить в образце наличие нескольких молекул ДНК, метилированных в заданной точке
- Для анализа требуется только стандартное лабораторное оборудование и машина для ПЦР в реальном времени

Протокол проведения GLAD-ПЦР-анализа

для определения исследуемого сайта 5'-R(5mC)GY-3'/3'YG(5mC)R-5' в образцах ДНК.

Подготовка праймеров и зондов

Геномный праймер и флюоресцентный зонд для фрагмента ДНК, расположенного рядом с определяемым сайтом R(5mC)GY подбираются как обычно[4].



Протокол ПЦР рассчитан на GC-состав фрагмента не выше 68-69%.

Гибридный праймер включает последовательность 5'-CCTGCTCTTTCATCGGYNN-3' где 15-буквенный 5'-конец праймера соответствует структуре универсального адаптера, а четырехбуквенный 3'-конец (подчеркнут) соответствует структуре исследуемого участка ДНК в точке гидролиза метилзависимой эндонуклеазой Glal. Подобная структура предполагает существование 32 вариантов гибридного праймера* в зависимости от различных возможных вариантов последовательности NNR(5mC).

Исследование каждого образца проводится в трех повторах – триплетах.

Смесь праймеров (2.5 мкл на 1 триплет) включает геномный и гибридный праймеры, а также флюоресцентный зонд в концентрациях 10мкМ каждого.

Подготовка ДНК

1. Подготовьте раствор исследуемых ДНК в H₂O (Если Вы планируете хранить раствор исследуемых ДНК, используйте вместо воды 1X TE буфер). Здесь и далее используйте деионизованную (Milli-Q) H₂O.

Этап 1: гидролиз ДНК

2. Подготовьте пробирки для ПЦР (200 мкл) по числу анализируемых образцов. В каждой пробирке смешайте 14 мкл H₂O и 1 мкл ДНК образца.
3. Подготовьте общую реакционную смесь для гидролиза ДНК из расчета на один триплет: 3,6 мкл H₂O + 2,2 мкл 10X SE TMN буфера + 0,5 мкл ДМСО + 0,2 мкл БСА + 0,03 мкл Glal. После добавления каждого следующего реагента аккуратно перемешайте содержимое пробирки и сбросьте капли центрифугированием.

Рекомендуемый минимальный объем реакционной смеси рассчитывается на 12 триплетов (если число триплетов в эксперименте меньше 12, то остаток реакционной смеси не используется).

4. Добавьте 6.5 мкл полученной реакционной смеси в каждую из пробирок с ДНК образцов (п.2), аккуратно перемешайте содержимое пробирки и сбросьте капли центрифугированием.
5. Инкубируйте 30 минут при 30 °С.

* Список возможных гибридных праймеров приведен в Приложении 3

Этап 2: Лигирование с универсальным адаптером

6. Подготовьте общую реакционную смесь для лигирования ДНК из расчета на один триплет:
4.6 мкл H₂O + 1.6 мкл универсального адаптера + 1.6 мкл АТФ + 1.2 мкл Т4 ДНК лигазы.
После добавления каждого следующего реагента аккуратно перемешайте содержимое пробирки и сбросьте капли центрифугированием.
7. Добавьте по 8.5 мкл смеси для лигирования ДНК в каждую пробирку после инкубирования (п.5), аккуратно перемешайте содержимое пробирки и сбросьте капли центрифугированием.
8. Инкубируйте 15 минут при 25 °С.

Этап 3: ПЦР в реальном времени

9. Подготовьте ПЦР Смесь для исследуемого R(5mC)GY сайта из расчета на один триплет:
19.0 мкл H₂O + 6.3 мкл 10X SE GLAD-Mg буфер + 1.6 мкл MgCl₂ + 1.3 мкл смеси трифосфатов + 0.6 мкл БСА + 2.5 мкл Смеси праймеров для исследуемого R(5mC)GY сайта + 0.2 мкл SP Taq ДНК полимеразы.
После добавления каждого следующего реагента аккуратно перемешайте содержимое пробирки и сбросьте капли центрифугированием.
10. Добавьте по 30 мкл Смеси для ПЦР в пробирки с ДНК после инкубации (п.8), аккуратно перемешайте содержимое пробирки и сбросьте капли центрифугированием.
11. Перенесите по 20 мкл реакционной смеси из каждой пробирки в три лунки на ПЦР планшете, заклейте оптически прозрачной плёнкой для запечатывания планшетов, отцентрифугируйте, поместите в термоциклер.
12. Проведите ПЦР в реальном времени по схеме, подходящей для данного фрагмента ДНК и Вашего прибора.

Приложение 1: Протокол определения сайта A(5mC)GT в регуляторной области гена URB1 и сайта G(5mC)GC в регуляторной области гена CEVBPД[4]

Ниже приведен протокол GLAD-ПЦР анализа для определения сайта A(5mC)GT в регуляторной области гена URB1 и сайта G(5mC)GC в регуляторной области гена CEVBPД. Эксперимент проводится в 6-ти триплетах с использованием 3 контрольных ДНК (ДНК Raji, ДНК HeLa, ДНК фага лямбда).

1. Подготовьте 6 реакционных пробирок (на 200 мкл) для каждого триплета и подпишите их А, В, С, D, Е, F. Смешайте 14 мкл H₂O и 1 мкл ДНК в каждой пробирке. Пробирки А, В - Lambda ДНК; С, D - HeLa ДНК; Е, F - Raji ДНК.

Подготовьте Смесь для гидролиза ДНК:

38,2 мкл H₂O + 32,6 мкл 10X SE TMN буфера + 6,6 мкл ДМСО + 3,3 мкл БСА.

После добавления каждого следующего реагента аккуратно перемешайте содержимое пробирки и сбросьте капли центрифугированием.

Добавьте 0.4 мкл Glal. Аккуратно перемешайте содержимое пробирки и сбросьте капли центрифугированием.

2. Добавьте по 6.5 мкл Смеси для гидролиза ДНК в каждую из 6 пробирок А-F. Аккуратно перемешайте содержимое пробирок и сбросьте капли центрифугированием. Остаток реакционной смеси не используется.

3. Инкубируйте 30 минут при 30 °С.

4. Подготовьте Смесь для лигирования ДНК для 6 триплетов:

27.4 мкл H₂O + 9,6 мкл универсального адаптера + 9,6 мкл АТФ + 7.2 мкл Т4 ДНК лигазы. После добавления каждого следующего реагента аккуратно перемешайте содержимое пробирки и сбросьте капли центрифугированием.

5. Добавьте по 8.5 мкл Смеси для лигирования ДНК в каждую пробирку А-F. Аккуратно перемешайте содержимое пробирок и сбросьте капли центрифугированием.

6. Инкубируйте 15 минут при 25 °С.

7. Подпишите две пустые пробирки (на 0,5 мл) как «URB1» и «CEVBPД».

Приготовьте ПЦР-смесь для сайтов R(5mC)GY в генах URB1 и CEVBPД:

В пробирки «URB1» и «CEVBPД» добавьте по 57,0 мкл H₂O + 19 мкл 10X SE GLAD-буфера + 4,8 мкл MgCl₂ + 3,9 мкл смеси трифосфатов + 1.9 мкл БСА. После добавления каждого следующего реагента аккуратно перемешайте содержимое пробирки и сбросьте капли центрифугированием.

8. Добавьте в пробирку «URB1» 7,5 мкл смеси праймеров и зонда URB1 плюс 0,6 мкл SP Taq ДНК Полимеразы.

Добавьте в пробирку «CEVBPД» 7,5 мкл смеси праймеров и зонда CEVBPД плюс 0,6 мкл SP Taq ДНК Полимеразы.

Аккуратно перемешайте содержимое пробирок и сбросьте капли центрифугированием.

9. Добавьте по 30 мкл ПЦР-смеси «URB1» в пробирки А, С, Е. Добавьте по 30 мкл ПЦР-смеси «CEVBPД» - в пробирки В, D, F. Аккуратно перемешайте содержимое пробирок и сбросьте капли центрифугированием.

10. Подготовьте планшет для ПЦР.

Перенесите по 20 мкл реакционной смеси из каждой пробирки в три лунки на ПЦР планшете, заклейте оптически прозрачной плёнкой для запечатывания планшетов, отцентрифугируйте, поместите в термоциклер.

11. Проведите ПЦР в реальном времени по следующей схеме:

3 мин при 95°C;

5 «слепых» циклов: 95°C — 10 сек; 63°C — 20 сек; 72°C — 5 сек;

40 циклов: 95°C — 10 сек; 63°C — 20 сек (с детекцией флуоресцентного сигнала в канале FAM); 72°C — 5 сек.

Указанный профиль термоциклирования является одним из возможных и может меняться в зависимости от типа термоциклера.

Ожидаемые результаты контрольного эксперимента:

Ген \ ДНК	ДНК Raji	ДНК Hela	ДНК фага лямбда (отриц. контроль)
URB1	+	+	-
CEBPD	+	-	-

Приложение 2: Протокол получения калибровочной прямой для определения количества копий ДНК, содержащих сайт A(5mC)GT в регуляторной области гена URB1[4]

Ниже приведен протокол получения калибровочной прямой для определения количества копий ДНК, содержащих сайт A(5mC)GT в регуляторной области гена URB1 методом GLAD ПЦР анализа. Эксперимент проводится в 6-ти триплетях с использованием ДНК фага Лямбда (контроль) и ДНК Raji в пяти различных концентрациях - «точки калибровки».

1. Подготовьте 5 пробирок с «точками калибровки» и одну контрольную:

Внесите в Пробирку №1 28 мкл H₂O, в пробирки №2, №3, №4, №5 – по 15 мкл H₂O, в пробирку №6 – 14 мкл H₂O.

В пробирку №1 добавьте 2 мкл раствора ДНК Raji в концентрации 18 нг/мкл. Аккуратно перемешайте.

В пробирку №2 – перенесите 15 мкл раствора ДНК из пробирки №1, аккуратно перемешайте.

В пробирку №3 – перенесите 15 мкл раствора ДНК из пробирки №2, аккуратно перемешайте.

В пробирку №4 – перенесите 15 мкл раствора ДНК из пробирки №3, аккуратно перемешайте.

В пробирку №5 – перенесите 15 мкл раствора ДНК из пробирки №4, аккуратно перемешайте.

Удалите 15 мкл смеси из пробирки №5.

В пробирку №6 добавьте 1 мкл раствора ДНК фага Лямбда в концентрации 18 нг/мкл. Аккуратно перемешайте. Сбросьте капли центрифугированием.

2. Подготовьте Смесь для гидролиза ДНК:

38,2 мкл H₂O + 32,6 мкл 10X SE TMN буфера + 6,6 мкл ДМСО + 3,3 мкл БСА.

После добавления каждого следующего реагента аккуратно перемешайте содержимое пробирки и сбросьте капли центрифугированием.

Добавьте 0.4 мкл Glal. Аккуратно перемешайте содержимое пробирки и сбросьте капли центрифугированием.

3. Добавьте по 6.5 мкл Смеси для гидролиза ДНК в пробирки 1-6. Аккуратно перемешайте содержимое пробирок и сбросьте капли центрифугированием.

4. Инкубируйте 30 минут при 30 °С.

5. Подготовьте Смесь для лигирования ДНК:

27.4 мкл H₂O + 9,6 мкл универсального адаптера + 9,6 мкл АТФ + 7.2 мкл Т4 ДНК лигазы. После добавления каждого следующего реагента аккуратно перемешайте содержимое пробирки и сбросьте капли центрифугированием.

6. Добавьте по 8.5 мкл Смеси для лигирования ДНК в пробирки 1-6. Аккуратно перемешайте содержимое пробирок и сбросьте капли центрифугированием.

7. Инкубируйте 15 минут при 25 °С.

8. Приготовьте ПЦР-смесь следующего состава:

114 мкл H₂O + 37,8 мкл 10X SE GLAD-буфера + 9,6 мкл MgCl₂ + 7,8 мкл смеси трифосфатов + 3,8 мкл БСА. После добавления каждого следующего реагента аккуратно перемешайте содержимое пробирки и сбросьте капли центрифугированием.

9. Добавьте в пробирку 15 мкл Контрольной смеси для URB1 и 1,2 мкл SP Taq ДНК Полимеразы, аккуратно перемешайте содержимое пробирки и сбросьте капли центрифугированием.

10. Добавьте по 30 мкл ПЦР-смеси «URB1» в пробирки 1-6. Аккуратно перемешайте содержимое пробирок и сбросьте капли центрифугированием.

11. Подготовьте планшеты для ПЦР. Перенесите по 20 мкл реакционной смеси из пробирки 1 в три лунки на ПЦР планшете, повторите эту процедуру для пробирок 2-6 (всего должно получиться 18 экспериментальных точек). Заклейте оптически прозрачной плёнкой для запечатывания планшетов, отцентрифугируйте, поместите в термоциклер.

12. Проведите ПЦР в реальном времени по следующей схеме:

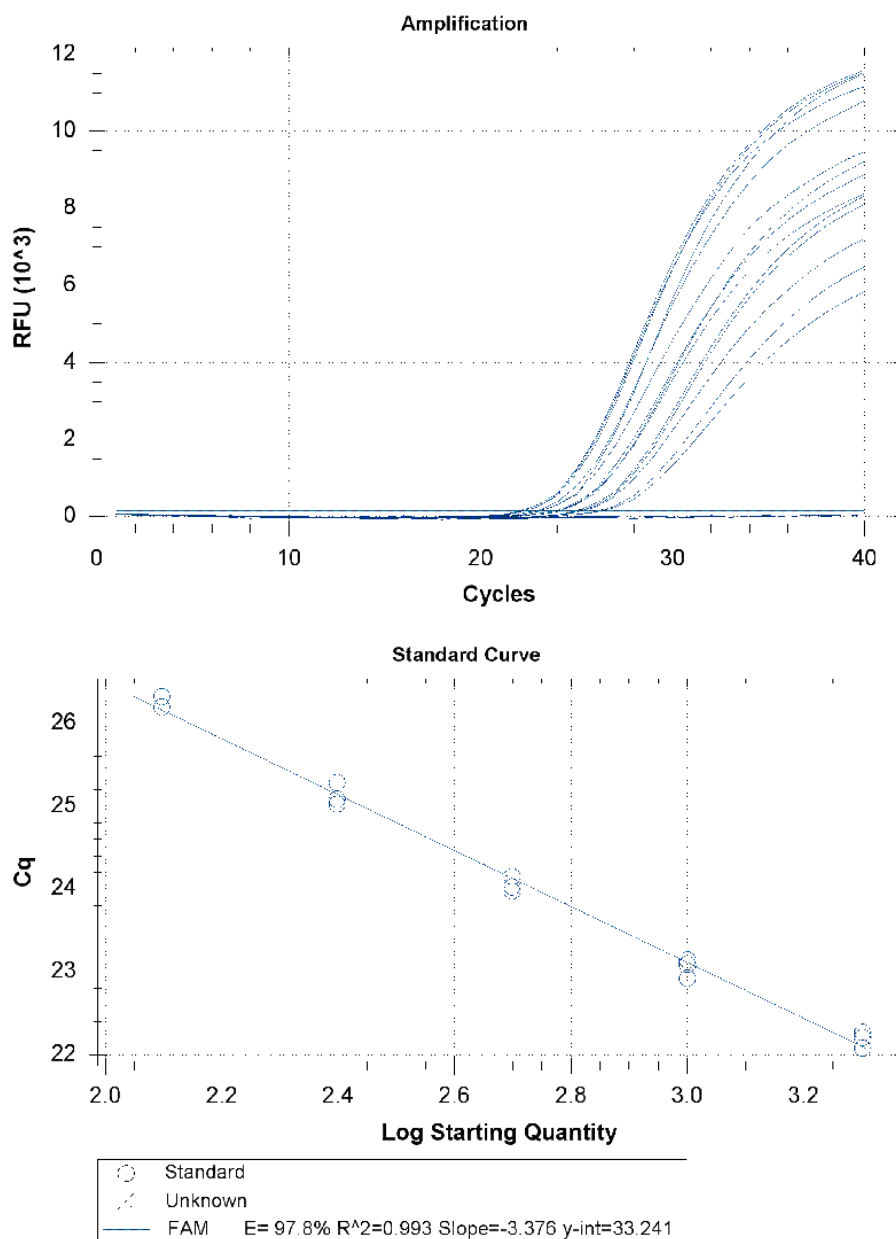
3 мин при 95°C;

5 «слепых» циклов: 95°C — 10 сек; 63°C — 20 сек; 72°C — 5 сек;

40 циклов: 95°C — 10 сек; 63°C — 20 сек (с детекцией флуоресцентного сигнала в канале FAM); 72°C — 5 сек.

Указанный профиль термоциклирования является одним из возможных и может меняться в зависимости от типа термоциклера.

Ожидаемые результаты контрольного эксперимента:



Приложение 3: Последовательности гибридных праймеров

HP1: 5' CCTGCTCTTTCATCGGCAA 3' (19)	HP17 5' CCTGCTCTTTCATCGGTAA 3' (19)
HP2: 5' CCTGCTCTTTCATCGGCAC 3' (19)	HP18 5' CCTGCTCTTTCATCGGTAC 3' (19)
HP3: 5' CCTGCTCTTTCATCGGCAG 3' (19)	HP19 5' CCTGCTCTTTCATCGGTAG 3' (19)
HP4: 5' CCTGCTCTTTCATCGGCAT 3' (19)	HP20 5' CCTGCTCTTTCATCGGTAT 3' (19)
HP5: 5' CCTGCTCTTTCATCGGCCA 3' (19)	HP21 5' CCTGCTCTTTCATCGGTCA 3' (19)
HP6: 5' CCTGCTCTTTCATCGGCC 3' (19)	HP22 5' CCTGCTCTTTCATCGGTCC 3' (19)
HP7: 5' CCTGCTCTTTCATCGGCCG 3' (19)	HP23 5' CCTGCTCTTTCATCGGTCTG 3' (19)
HP8: 5' CCTGCTCTTTCATCGGCCT 3' (19)	HP24 5' CCTGCTCTTTCATCGGTCT 3' (19)
HP9: 5' CCTGCTCTTTCATCGGCGA 3' (19)	HP25 5' CCTGCTCTTTCATCGGTGA 3' (19)
HP10 5' CCTGCTCTTTCATCGGCGC 3' (19)	HP26 5' CCTGCTCTTTCATCGGTGC 3' (19)
HP11 5' CCTGCTCTTTCATCGGCGG 3' (19)	HP27 5' CCTGCTCTTTCATCGGTGG 3' (19)
HP12 5' CCTGCTCTTTCATCGGCGT 3' (19)	HP28 5' CCTGCTCTTTCATCGGTGT 3' (19)
HP13 5' CCTGCTCTTTCATCGGCTA 3' (19)	HP29 5' CCTGCTCTTTCATCGGTTA 3' (19)
HP14 5' CCTGCTCTTTCATCGGCTC 3' (19)	HP30 5' CCTGCTCTTTCATCGG TTC 3' (19)
HP15 5' CCTGCTCTTTCATCGGCTG 3' (19)	HP31 5' CCTGCTCTTTCATCGGTTG 3' (19)
HP16 5' CCTGCTCTTTCATCGGCTT 3' (19)	HP32 5' CCTGCTCTTTCATCGGTTT 3' (19)

Список литературы

1. Handa, V., and Jeltsch A. "Profound sequence preference of Dnmt3a and Dnmt3b mammalian DNA methyltransferases shape the human epigenome" // 2005, J. Mol. Biol. 348, 1103-1112
2. Tarasova G. V., Nayakshina T. N., Degtyarev S. Kh. [Substrate specificity of new methyl-directed DNA endonuclease Glal.](#) // BMC Molecular Biology 2008, 9:7
3. Кузнецов В.В., Абдурашитов М.А., Акишев А.Г., Дегтярев С.Х. [Способ определения нуклеотидной последовательности Pu\(5mC\)GPy в заданном положении протяженной ДНК](#) // Патент на изобретение RU 2525710 C1 (2014)
4. A.G. Akishev et al. [GLAD-PCR assay of selected R\(5mC\)GY sites in URB1 and CEPBD genes in human genome](#) // Res J Pharm Biol Chem Sci, 8(1): pp.465-475, 2017

Информация для заказа

Описание продукта	Каталожн. №
Набор для GLAD-ПЦР-анализа, 200 реакций	K009S
Набор для GLAD-ПЦР-анализа, 1000 реакций	K009L
Набор для GLAD-ПЦР-анализа, 200 реакций с гибридными праймерами, 200 реакций, 1 гибридный праймер на выбор	K010/1
Набор для GLAD-ПЦР-анализа, 200 реакций с гибридными праймерами, 200 реакций, 3 гибридных праймера на выбор	K010/3
Набор для GLAD-ПЦР-анализа, 200 реакций с гибридными праймерами, 200 реакций, 5 гибридных праймеров на выбор	K010/5
Набор для GLAD-ПЦР-анализа, 200 реакций с гибридными праймерами, 200 реакций, полный комплект из 32 гибридных праймеров	K010/32

Отдельные фасовки	Каталожный №	Объем
Glal (20 е.а./мкл)	E493/ E494	100/500 е.а.
T4 ДНК лигаза, (200 е.а./мкл)	E319/E320	10000/50000 е.а.
10X SE GLAD-Mg буфер	B013	1 мл
Смесь трифосфатов, 10 мМ каждый	N025	40 мкМ
SP Taq ДНК Полимераза (5 е.а./мкл)	E333/E334	200/1000 е.а.
Синтез флюоресцентного зонда	K009TM	1 набор на 200 реакций
Синтез флюоресцентного зонда, геномного и гибридного праймеров	K009PTM	1 набор на 200 реакций

Услуги

Пожалуйста свяжитесь с нами (info@sibenzyme.ru) если вам нужна наша помощь с подбором структуры праймеров на интересующий вас RCGY сайт.

Набор праймеров и зондов может быть синтезирован заказчиком самостоятельно либо заказан отдельно.