

ПИР, противоингибирующий реактив для ПЦР

ПИР – реактив, используемый для проведения ПЦР на загрязненной ДНК. Действие реактива основано на устранении явлений ингибирования, вызванных присутствием в препаратах ДНК примесей, ингибирующих полимеразу или связывающих ДНК (гуминовых кислот, полисахаридов, некоторых белков и т.п.). Использование реактива позволяет сильно упростить пробоподготовку для постановки ПЦР в тех случаях, когда добиться качественной очистки ДНК от загрязняющих примесей-ингибиторов сложно или же вообще невозможно из-за образования стабильных комплексов ингибиторов с молекулами ДНК. Кроме того, использование ПИР повышает надежность проведения ПЦР в случае её постановки на препаратах, полученных экспресс-методами (лизис клеток без последующей очистки). Реактив испытан на 200 образцах почвенной ДНК, а также на ДНК, выделенной из животных, из растений различных видов и из бактериальных культур.

Тип матрицы	Эффективность применения
Растительная ДНК (выд. СТАВ-методом)	Высокая
Почвенная ДНК	Очень высокая
Бактериальная ДНК (выд. СТАВ-методом)	Высокая
Лизированные длительным нагревом бактериальные клетки (<i>A.tumefaciens</i>)	Высокая
Живые бактериальные клетки (ПЦР с колоний, <i>E.coli</i>)	Средняя/низкая

ПИР совместим с ПЦР-РВ как в варианте с интеркалирующими красителями, так и в варианте с гидролизными зондами (TaqMan), не влияет на постановку электрофореза полученных ПЦР-продуктов. ПЦР-продукты, полученные с использованием ПИР, секвенируются по Сенжеру без дополнительной очистки.

При применении ПИР как правило не требуется повторная оптимизация параметров термоциклирования.

Из-за большого соотношения объема ПИР и всей ПЦР-смеси при приготовлении реакционной смеси нужно вносить ПИР до внесения полимеразы. Рабочая концентрация ПИР — 1х, повышение концентрации ПИР не приводит к увеличению выхода ПЦР-продукта, при концентрации более 1,5-2х возможно негативное влияние на выход. В крайнем случае допускается уменьшение концентрации до 0,5х. Применение ПИР в ПЦР-реакциях с чистой матрицей не увеличивает (но и не уменьшает) выход ПЦР-продукта.

Реактив поставляется в виде 4х раствора. Условия хранения: -20°C.