

**Биолабмикс®**

IQ-полимераза

Кат. номер E-15001, E-15005

Описание фермента

IQ-полимераза является рекомбинантным Pfu-подобным ферментом, полученным путем слияния термостабильной генетически модифицированной ДНК-полимеразы термофильных архей и ДНК-связывающего домена.

IQ-полимераза обладает 5'→3' полимеразной активностью и 3'→5' экзонуклеазной корректирующей активностью.

IQ-полимераза производит синтез в 4 раза точнее¹ Фьюжн 2.0 полимеразы (Кат. номер E-14001, E-14005), обладает высокой скоростью (до 6000 п.н./мин), и способна синтезировать последовательности до 10 т.п.н. на ДНК фага лямбда и геномной ДНК.

Фермент IQ-полимераза поставляется с 5× реакционным буфером (1× буфер содержит 2,5 мМ сульфата магния).

Область применения:

IQ-полимераза подходит для высокоточной амплификации фрагментов ДНК размером до 10 т.п.н. и их последующего клонирования.

Источник

IQ-полимераза выделена из штамма *E.coli*, содержащего плазмиду с клонированным фрагментом ДНК, состоящим из слитых генов термостабильной генетически модифицированной ДНК-полимеразы архебактерий и ДНК-связывающего домена.

Единицы активности

Одна единица активности соответствует количеству фермента, необходимому для включения 10 нмоль dNTP в кислотонерастворимую фракцию ДНК за 30 мин при 74°C.

Концентрация фермента и фасовки: 2 ед.а./мкл.

Кат №	Название	Количество	Объем фермента	Объем 5x IQ-буфера
E-15001	IQ-полимераза	200 ед. активности	100 мкл	1x1 мл
E-15005	IQ-полимераза	1000 ед. активности	500 мкл	5x1 мл

¹ Точность фермента определяли методом клонирования поученного фрагмента и секвенирования по Сэнгеру [Chait, Edward; Page, Guy; Hunkapiller, Michael (1988). "Battle of the DNA sequencers". Nature. 333 (6172): 477–478. Bibcode:1988Natur.333..477C. doi:10.1038/333477a0. ISSN 0028-0836]

Буфер хранения

Фермент находится в растворе следующего состава: 20 мМ Tris -HCl (pH 7,5 при 25°C), 100 мМ KCl, 1 мМ ДТТ, 0,1 мМ ЭДТА, 200 мкг/мл БСА, 0,1% Tween 20, 50% глицерин.

Контроль качества

Каждая партия фермента тестируется на электрофоретическую чистоту в SDS-ПААГ, активность фермента, отсутствие неспецифической дезоксирибонуклеазной активности.

Протокол проведения стандартной реакции ПЦР с IQ-полимеразой

1. Смешайте индивидуальные компоненты в пробирке согласно таблице (для оптимального результата при замешивании реакционной смеси держите компоненты во льду):

Компонент	Реакционная смесь, 50 мкл	Конечная концентрация
5x iQ-буфер	10 мкл	1x
Смесь dNTP (по 25 мМ каждый, NM25-0100)	1,6 мкл	по 800 мМ каждого dNTP
Прямой праймер, 2 мМ	5 мкл	200 нМ ¹
Обратный праймер, 2 мМ	5 мкл	200 нМ ¹
Образец ДНК	переменный	от 10 пг до 250 нг ²
IQ-полимераза, 2 ед.а./мкл	1 мкл	2 е.а. на 50 мкл реакц. смеси ³
Вода стерильная (SP010-05)	до 50 мкл	-

¹ концентрация праймеров может варьировать в пределах 10 –500 нМ.

² для геномной ДНК рекомендуется использовать от 10 до 250 нг на реакцию, для плазмид и ДНК вирусов – от 5 до 20 нг.

³ для «сложных матриц» или геномной ДНК предпочтительно добавить ДМСО до 1% на реакцию.

2. Аккуратно перемешайте содержимое пробирки и «сбросьте капли» с помощью непродолжительного центрифугирования.
3. Перенесите пробирку с реакционной смесью в предварительно нагретый амплификатор.

4. Используйте следующую программу для стандартной ПЦР:

№	Стадия	Температура и время	Количество циклов
1	Предварительная денатурация	95°C, 5 мин	1 цикл
2.1	Денатурация	96°C, 10 сек	25-35 циклов
2.2	Отжиг праймеров	50-72°C, 10 сек	
2.3	Элонгация	72°C, 20 сек/1 т.п.н.	
3	Финальная элонгация	72°C, 10 мин	1 цикл

5. Проанализируйте продукты ПЦР в агарозном геле. Образцы предварительно необходимо смешать с буфером для внесения образцов в гель (D -3002).

Условия хранения

Хранить в месте, защищенном от попадания света при -20 °C – 24 месяца; не более 50 циклов замораживания-размораживания.

Условия транспортировки

Транспортируется в термоконтейнерах с охлаждающими элементами, допускается повышение температуры до температуры окружающей среды при транспортировке до 10 дней.