


Биолабмикс®

Общество с ограниченной ответственностью

«Биолабмикс»

ИНН 5408278957 КПП 540801001

630090, Новосибирская обл., г. Новосибирск,

ул. Инженерная, дом № 28

Tel/Fax: +7(383)363-51-91

E-mail: sales@biolabmix.ru

HS-Taq ДНК-полимераза

Кат. номер E-7010, E-7100

Описание

HS-Taq ДНК-полимераза (5 ед. акт./мкл) представляет собой рекомбинантную Taq ДНК-полимеразу, инактивированную специфическими моноклональными антителами. HS-Taq ДНК-полимераза неактивна при комнатной температуре. Для её активации необходим прогрев реакционной смеси при 95 °С в течение 5 мин. Рекомбинантная HS-Taq ДНК-полимераза обладает 5'-3' ДНК-зависимой полимеразной активностью и 5'-3' экзонуклеазной активностью нативной Taq ДНК-полимеразы из *Thermus aquaticus*. Скорость продвижения HS-Taq ДНК-полимеразы зависит от сложности ДНК-матрицы и составляет примерно 1 т.п.н./мин. Рекомбинантная HS-Taq ДНК-полимераза идеально подходит для стандартной ПЦР с матрицы до 5 т.п.н.

Состав набора

Кат. №	Единиц активности, всего	HS-Taq ДНК-полимераза, 5 ед. акт./мкл
E-7010	1000	1 × 200 мкл
E-7100	10 000	2 × 1000 мкл

Активность полимеразы

Концентрация HS-Taq ДНК-полимеразы – 5 ед. акт./мкл. За единицу активности принимали количество фермента, катализирующее включение 10 нмоль dNTP в кислотонерастворимый продукт за 30 мин при 72 °С. Условия реакции: 50 мМ Трис-НCl, pH 9,0, 50 мМ NaCl, 10 мМ MgCl₂, 200 мМ dATP, 200 мМ dCTP, 200 мМ dGTP, 50 мМ [³H] dTTP, 0,25 мг/мл активированной ДНК из тимуса теленка.

Буфер хранения полимеразы

10 мМ Трис-НCl, pH 7,5, 100 мМ KCl, 0,1 мМ EDTA, 1 мМ DTT, 0,5% IGEPAL CA-630, 0,5% Tween 20, 50% глицерин.

Область применения

- Высокопроизводительная ПЦР;
- Обычная ПЦР с высокой воспроизводимостью;
- Нарботка ПЦР-продуктов для ТА-клонирования;
- Вторая стадия ОТ-ПЦР.

Ограничения к использованию

Не рекомендуется использовать для получения продуктов длиной свыше 5 т.п.н.

Протокол выполнения амплификации

1. Предварительно разморозьте компоненты для ПЦР, перемешайте растворы, сбросьте капли кратким центрифугированием.
2. Смешайте индивидуальные компоненты в пробирке согласно таблице:

Компонент	Реакционная смесь, 25 мкл	Реакционная смесь, 50 мкл	Конечная концентрация
10× ПЦР-буфер *	2,5 мкл	5 мкл	1×
50× смесь dNTP (10 mM каждого)	0,5 мкл	1 мкл	0,2 mM
50 mM раствор MgCl ₂ *	переменный объем		2-5 mM
Прямой праймер	переменный объем		100-500 nM
Обратный праймер	переменный объем		100-500 nM
Образец ДНК	переменный объем		от 1 пг до 250 нг
HS-Taq ДНК-полимераза, 5 ед. акт./мкл	0,1-0,2 мкл	0,2-0,4 мкл	1-2 ед. акт./50 мкл реакц. смеси
Стерильная вода	до 25 мкл	до 50 мкл	-

* 10× ПЦР-буфер поставляется отдельно, например Кат. № SP020 (не содержит ионов магния).

3. Осторожно перемешайте и сбросьте капли, используя центрифугу. Готовую реакционную смесь следует быстро переместить в предварительно прогретый до 95 °С амплификатор. В случае использования амплификатора без нагревающейся крышки, добавьте в каждую пробирку каплю (25-35 мкл) минерального масла.
4. Проведите ПЦР, используя рекомендованные ниже температурные условия:

Шаг	Температура, °С	Время инкубации	Количество циклов
Предварительная денатурация	95	0,5-5 мин	1
Денатурация	95	10-20 сек	
Отжиг *	50-72	10-20 сек	25-35
Элонгация **	72	0,5-1 мин/т.п.н.	
Финальная элонгация	72	5-10 мин	1

* При амплификации больших фрагментов (~ 5 т.п.н.) рекомендуется пропускать данную стадию.

** Для геномной ДНК рекомендуется увеличить время элонгации.

Условия хранения

Хранить в месте, защищенном от попадания света:

при -20 °С – 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.