



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, Tel: +7(383)363-22-40
E-mail: sales@biolabmix.ru

HS-Taq-Next ДНК-полимераза

Кат. номер E-8005, E-8025, E-8100

Описание:

HS-Taq-Next ДНК-полимераза (2,5 ед. акт/мкл) представляет собой рекомбинантную ДНК-полимеразу Taq, инактивированную термолабильными моноклональными антителами. HS-Taq-Next ДНК-полимераза активируется короткой 5-минутной инкубацией при +95 °С, и пригодна для использования в любом термоциклере. Фермент предназначен для амплификации сложных матриц и получения ампликонов длиной до 20 т.п.н.

HS-Taq-Next ДНК-полимераза - это генно-инженерный продукт полученный на основе высокотермостабильной рекомбинантной Taq ДНК-полимеразы термофильной бактерии *Thermus aquaticus*. Фермент катализирует синтез ДНК в направлении 5'→3', имеет низкую 3'→5' экзонуклеазную (корректирующую) активность и обладает 5'→3' экзонуклеазной активностью. Точность HS-Taq-Next ДНК-полимеразы на 30% выше, чем у природной Taq ДНК-полимеразы. Рекомбинантный аналог не проявляет эндонуклеазной активности. Скорость удлинения Taq ДНК-полимеразы составляет приблизительно 1-2 т.п.н./ мин и зависит от сложности структуры матрицы ДНК.

Буфер для хранения HS-Taq-Next ДНК-полимеразы:

50 мМ Tris-HCl, pH 8.0 (при температуре 25°C), 50 мМ NaCl, 0.1 мМ ЭДТА, 1 мМ ДТТ, 50% (v/v) глицерина и 1% (v/v) Triton X-100.

10× Next ПЦР буфер (Kat № SP040):

150 мМ Tris-HCl (pH 8.9 при температуре 25°C), 250 мМ KCl, 20 мМ MgSO₄, стабилизаторы HS-Taq-Next-полимеразы.

Основные особенности

- Высокостабильный фермент, сохраняет активность после инкубации при комнатной температуре в течении 5-ти дней.
- Приготовление реакционной смеси может выполняться при комнатной температуре.
- Точность на 30% выше, чем у природной Taq ДНК-полимеразы.
- Получение ПЦР-продуктов с выступающими 3'-dA-концами.

Область применения:

- ПЦР для получения длинных фрагментов ("long-range" ПЦР)
- Стандартный ПЦР
- Амплификация сложных матриц, содержащих GC-богатые участки
- Низкокопийные мишени.
- ПЦР в реальном времени с интеркалирующими красителями
- (SYBR Green и др.)
- Нарботка ПЦР-продуктов для ТА-клонирования остатков, выступающих на концах амплифицированных фрагментов ДНК.

Протокол выполнения амплификации

Приготовьте реакционную смесь для ПЦР из расчёта «количество реакций + одна», чтобы компенсировать неточности дозирования и смешайте воду, буфер, праймеры и HS-Taq-Next ДНК-полимеразу. Аликвотируйте реакционную смесь в индивидуальные ПЦР-пробирки и затем добавьте ДНК-матрицу

1. Разморозьте компоненты ПЦР-смеси, аккуратно и тщательно перемешав.
2. Поместите тонкостенные пробирки в штатив и добавьте следующие компоненты, предполагая, что общий объем одной ПЦР-смеси составляет 50 мкл:

Компонент	Объем	Конечная концентрация
10× Next ПЦР буфер	10 мкл	1×
25 мМ MgSO ₄	переменный	2-5 мМ
Смесь dNTP (10 мМ каждого)	2 мкл	0,4 мМ
Прямой праймер	переменный	0,1 – 800 нМ
Обратный праймер	переменный	0,1 – 800 нМ
ДНК-матрица	переменный	1 пг – 1 мкг
HS-Taq-Next DNA полимеразы, 2,5 ед.акт./мкл	1	0,05 ед.акт./мкл
Вода стерильная	до 50 мкл	

3. Осторожно перемешайте и сбросьте капли, используя центрифугу.

4. Проводите ПЦР с использованием рекомендуемых параметров:

Этап	Температура, °С	Время	Количество циклов
Предварительная денатурация	92-94	5 мин	1
Денатурация	92-94	5-20 сек	
Отжиг	50-68 (Tm-5)	5-20 сек	25-45
Элонгация	68	1,5+2 тыс.п.н./мин	
Финальная элонгация	68	5-15 мин	1

5. После проведения ПЦР проанализируйте продукты амплификации электрофорезом.

Условия хранения:

Хранить при температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. При соблюдении условий хранения – не менее 1 года.

Условия транспортировки:

Транспортировать термokonтейнерах с охлаждающими элементами при $t - 0-4^{\circ}$