

HS Taq ДНК-полимераза

Кат. ## PK017S, PK017L, PK017H, PK018

Версия 3 от 4 апреля 2025 г.

HS Taq ДНК-полимераза предназначена для рутинных аналитических исследований — амплификации ДНК, проведения ПЦР-скринингов, включения меченых нуклеотидов, ник-трансляции и т.д. Фермент получен из штамма *E.coli*, экспрессирующего ген *polA* термостабильной бактерии *Thermus aquaticus* YT1. HS Taq ДНК-полимераза представляет собой смесь рекомбинантного фермента Taq ДНК-полимеразы и специфических моноклональных антител к полимеразе. HS Taq ДНК-полимераза неактивна в условиях приготовления реакционной смеси. Активация фермента происходит в течение первой денатурации. При температуре более 70 °С комплекс ДНК-полимеразы с антителом диссоциирует. Наличие "горячего старта" существенно повышает чувствительность и специфичность реакции.

Только для использования в научно-исследовательских целях.

Состав

Кат. #	Кол-во е.а.	Кол-во р-ций по 25 мкл	Состав
PK017S	500	400–2 000	HS Taq DNA Polymerase, 100 µl 10X Taq Turbo buffer, 1.5 ml
PK017L	2 500	2 000–10 000	HS Taq DNA Polymerase, 500 µl (5 x 100 µl) 10X Taq Turbo buffer, 7.5 ml (5 x 1.5 ml)
PK017H	5 000	4 000–20 000	HS Taq DNA Polymerase, 1 ml (10 x 100 µl) 10X Taq Turbo buffer, 15 ml (10 x 1.5 ml)
PK018	2 500	2 000–10 000	HS Taq DNA Polymerase, 500 µl (5 x 100 µl) 10X Taq Turbo buffer, 7.5 ml (5 x 1.5 ml) dNTP mix (10 mM each), 1 ml (5 x 200 µl)

За единицу активности рекомбинантной Taq ДНК-полимеразы принимают количество фермента, необходимое для включения 10 нмоль dNTP в кислотонерастворимую фракцию за 30 мин при 72 °С.

Хранение и транспортировка: –20 °С.

Срок годности: 12 месяцев с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

Область применения

- Амплификация ДНК.
- ПЦР-РВ с TaqMan-зондами.
- ПЦР-РВ с интеркалирующими красителями.
- ПЦР-скрининг
- Мультиплексная ПЦР.

Основные характеристики

- Быстрый "горячий старт" в первом цикле денатурации (95 °С, 5–10 с).
- Увеличенная специфичность амплификации по сравнению с Taq ДНК-полимеразой без "горячего старта".
- Температурный оптимум активности: 70–74 °С.
- 5'→3' экзонуклеазная активность.
- Отсутствует 3'→5' экзонуклеазная активность (корректирующая).
- Длина амплифицируемых фрагментов до 5 т.п.о.
- Возможность клонирования продуктов ПЦР в TA-вектор.

Протокол

При постановке ПЦР соблюдайте зонирование помещений. Разделите зоны для приготовления реакционной смеси, внесения ДНК-матрицы, проведения ПЦР и анализа ПЦР-продукта.

1. Разморозьте при комнатной температуре все компоненты для ПЦР, кроме полимеразы. Перемешайте их содержимое на вортексе, сбросьте капли кратким центрифугированием.

▶ При обнаружении осадка в 10X Taq Turbo buffer, прогрейте буфер при +37 °С до полного растворения осадка.

2. Приготовьте реакционную смесь:

- рекомендуемый объем реакции — 25 мкл;
- для избежания погрешности дозаторов и дополнительных разведений компонентов реакции рекомендуется рассчитывать реакционную смесь минимум на 4 образца;
- предварительно выберите реакционный буфер:

10X Taq Turbo buffer, входящий в состав набора, содержит ионы Mg^{2+} в концентрации 25 мМ (в однократной ПЦР-смеси концентрация магния составляет 2.5 мМ). Если необходимо оптимизировать количество магния в ПЦР-смеси, рекомендуется использовать буферы без Mg^{2+} и 50 мМ раствор $MgCl_2$.

Чтобы получить ПЦР-продукт для анализа на агарозном геле без добавления специального буфера для нанесения проб можно воспользоваться Taq Red буфером.

- предварительно рассчитайте количество ДНК-матрицы (см. п. 5).

- *Дополнительные компоненты возможно приобрести отдельно — информация приведена в конце инструкции.*

Компонент	Количество для реакции объемом 25 мкл
Вода деионизированная, свободная от нуклеаз	до 25 мкл (необходимо учесть объем ДНК-матрицы)
Буфер	2.5–5 мкл (в зависимости от кратности буфера)
MgCl ₂ (50 мМ)	0.75–2 мкл (если Mg ²⁺ не входит в состав буфера)
Праймер 1 (10 мкМ)	0.5–1.25 мкл
Праймер 2 (10 мкМ)	0.5–1.25 мкл
dNTP (10 мМ каждого)*	0.5 мкл
HS Taq DNA Polymerase	0.05–0.25 мкл (в зависимости от концентрации, чистоты ДНК-матрицы и длины ПЦР-продукта)

* Рекомендуется использовать смесь dNTP (10 мМ каждого) (кат. ## PB006S/L, Евrogen).

3. Аккуратно перемешайте реакционную смесь на вортексе, сбросьте капли кратким центрифугированием.

4. Разнесите реакционную смесь в пробирки для ПЦР.

5. Внесите необходимое количество ДНК-матрицы в пробирки для ПЦР. Оптимальная концентрация матрицы в реакции зависит от источника ДНК, степени ее очистки и длины ампликона. Для амплификации длинных фрагментов требуется больше матрицы, однако слишком высокая концентрация ДНК-матрицы в реакционной смеси может ингибировать ПЦР и приводить к неспецифической амплификации.

Тип матрицы	Оптимальное количество
Плазмидная и фаговая ДНК	0.01–1 нг
Геномная ДНК бактерий	0.1–10 нг
Геномная ДНК эукариот	10–500 нг
Индивидуальные фрагменты линейной ДНК	0.001–0.1 нг
кДНК	до 10% объема реакционной смеси

6. При использовании амплификатора без нагревающейся крышки, наложите поверх реакционной смеси минеральное масло.

7. Установите пробирки в амплификатор. Запустите программу, следуя рекомендациям:

Предварительная денатурация	95 °С	1–3 мин
	95 °С	15–20 с
Циклы ПЦР (оптимизировать)	Tm	15–20 с
	72 °С	от 15 с, зависит от длины ПЦР-фрагмента
Финальная достройка цепи	72 °С	2–10 мин

- Рекомендуется минимизировать количество циклов ПЦР, так как их избыточное количество может привести к образованию неспецифических ПЦР-продуктов.
- Скорость элонгации 1 т. п. о. в минуту. Режим амплификации может отличаться для разных моделей термоциклеров. Tm — температура отжига праймеров.
- Финальная достройка цепи не является обязательной стадией; она используется для завершения процесса дупликации одноцепочечных фрагментов (например, при препаративной наработке ДНК).

Возможно приобрести дополнительно

Кат. #	Продукт	Количество
PB002	10X Taq Turbo buffer (без Mg ²⁺)	3 000 р-ций по 25 мкл (5 x 1.5 мл)
PB003	5X Taq Red buffer	1 500 р-ций по 25 мкл (5 x 1.5 мл)
PB004	5X Taq Red buffer (без Mg ²⁺)	1 500 р-ций по 25 мкл (5 x 1.5 мл)
PB005	MgCl ₂	5 мл (5 x 1 мл)
PB006S	Смесь dNTP (10 мМ каждого)	200 мкл, 2 мкмоль
PB006L		2 мл (10 x 200 мкл), 20 мкмоль
PB207S	Вода деионизированная, свободная от нуклеаз	7.5 мл (5 x 1.5 мл)

ЗАО Евроген
 Москва 117997
 ул. Миклухо-Маклая 16/10, к. 15
 Тел.: +7 (495) 784-7084
order@evrogen.ru
www.evrogen.ru