

HS Taq ДНК-полимераза

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.

Область применения

- амплификация ДНК в рутинных аналитических исследованиях
- мультиплексная ПЦР
- ПЦР в режиме реального времени

Кат. #	Кол-во ед.	Состав
PK017S	500 ед.	HS Taq ДНК-полимераза, 100 мкл 10X Taq Turbo буфер, 1.5 мл
PK017L	2500 ед.	HS Taq ДНК-полимераза, 5 x 100 мкл 10X Taq Turbo буфер, 5 x 1.5 мл
PK017H	5000 ед.	HS Taq ДНК-полимераза, 10 x 100 мкл 10X Taq Turbo буфер, 10 x 1.5 мл
PK018	2500 ед.	HS Taq ДНК-полимераза, 5 x 100 мкл 10X Taq Turbo буфер, 5 x 1.5 мл 50X смесь dNTP (10 mM каждого), 5 x 200 мкл

Активность фермента – 5 ед./мкл. 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.

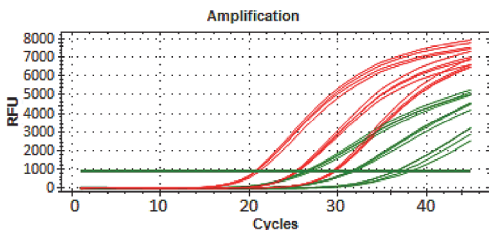
Срок хранения при соблюдении условий хранения и транспортировки – 1 год.

Основные свойства HS Taq ДНК-полимеразы

- быстрый "горячий старт" в первом цикле денатурации (95 °С, 5-10 сек)
- температурный оптимум активности 70-74 °С
- увеличенная специфичность амплификации по сравнению с Taq ДНК-полимеразой
- 5'->3' экзонуклеазная активность
- длина амплифицируемых фрагментов до 5 т. п. о.
- возможность клонирования продуктов ПЦР в ТА-вектор

Подбор реакционного буфера

- Для большинства приложений ПЦР рекомендуется использовать Taq Turbo буфер (особенно в случае GC-богатых ампликонов). Концентрация ионов магния в конечной системе составляет 2.5 мМ. При необходимости оптимизировать концентрацию ионов магния в реакции, можно отдельно заказать Taq Turbo буфер без Mg^{2+} .
- Применение стандартного Taq буфера допустимо, если увеличение эффективности ПЦР может привести к появлению неспецифического продукта, а также для реакций, в которых условия ПЦР были ранее оптимизированы под использование Taq буфера. Концентрация ионов магния в конечной системе составляет 3 мМ. При необходимости можно отдельно заказать Taq буфер без Mg^{2+} .



Результат амплификации GC-богатого фрагмента плазмиды в Taq Turbo буфере (красным) и Taq буфере (зеленым).

Длина фрагмента 490 п.о. Интеркалирующий краситель EvaGreen®. На старте ПЦР использовали 5, 0.5 и 0.05 нг плазмидной ДНК, 4 технических повторности каждой точки.

Возможно приобрести дополнительно

Кат. #	Продукт	Количество
Стандартный буфер для Taq и HS Taq ДНК-полимераз		
PB008	10X Taq буфер	3000 р-ций по 25 мкл (5 x 1.5 мл)
PB009	10X Taq буфер (без Mg ²⁺)	3000 р-ций по 25 мкл (5 x 1.5 мл)
Высокоэффективные буферы для Taq и HS Taq ДНК-полимераз		
PB002	10X Taq Turbo буфер (без Mg ²⁺)	3000 р-ций по 25 мкл (5 x 1.5 мл)
PB003	5X Taq Red буфер	1500 р-ций по 25 мкл (5 x 1.5 мл)
PB004	5X Taq Red буфер (без Mg ²⁺)	1500 р-ций по 25 мкл (5 x 1.5 мл)

Рекомендуемые условия амплификации

- На 100 мкл реакционной ПЦР смеси рекомендуется добавлять 1-5 ед. фермента в зависимости от свойств матрицы.
- Количество матрицы для ПЦР зависит от её типа и может варьировать от 0.1 до 100 нг.
- Рекомендуемая конечная концентрация dNTP в готовой реакционной смеси 0.2 мМ каждого.
- Количество циклов ПЦР не должно превышать 38-40. В противном случае повышается вероятность получения продуктов неспецифической амплификации.
- Для реакций, требующих индивидуального подбора концентрации ионов Mg²⁺, рекомендуется приобрести буферы без ионов магния. Конечная концентрация ионов Mg²⁺ в реакции может варьироваться от 1 до 3.5 мМ.
- Режим амплификации для объема смеси не более 25 мкл:

Предварительная денатурация	95 °C	1-3 мин
Циклы ПЦР (оптимизировать)	95 °C	15-20 сек
	Tm	15-20 сек
	72 °C	от 15 сек, зависит от длины ПЦР-фрагмента

Скорость элонгации 1 т.п.о. в минуту. Режим амплификации может отличаться для разных моделей термоциклеров. Tm – температура отжига праймеров.

Клонирование ПЦР-продуктов в TA-векторы

Продукт ПЦР может быть клонирован в рAL2-Т вектор (кат. # TA002) благодаря выступающим на концах дезоксиаденозиновым остаткам.

Для клонирования используйте свежеприготовленный ПЦР-продукт. Сразу после окончания амплификации пробирку с продуктом ПЦР поместите в лед. Использование неочищенного ПЦР-продукта сильно снижает эффективность клонирования, поэтому рекомендуем провести очистку ДНК на колонке или путем фенольной экстракции с последующим пересаживанием. Для реакции лигирования обычно достаточно 100-200 нг ДНК.

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