HS Taq ДНК-полимераза

Кат. ## PK017S, PK017L, PK017H, PK018

Версия 5 от 13 июля 2026 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 °C 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 °C.

Хранение и транспортировка: –20 °C.
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 (SYBR Green I и др.).
- ПЦР-скрининг.
- Мультиплексная ПЦР.

Основные характеристики

- Быстрый "горячий старт" в первом цикле денатурации.
- 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).
- Возможность клонирования продуктов ПЦР в ТА-векторы.
- Количество матрицы и длина амплифицируемого фрагмента:

Тип матрицы	Оптимальное количество*	Максимальный размер ампликона
Высококопийные матрицы (плазмиды, вирусы, в т.ч. фаги, ампликоны)	до 200 нг	до 15 т.п.о.
Геномная ДНК бактерий	до 150 нг	до 10 т.п.о.
Геномная ДНК эукариот	до 500 нг	до 5 т.п.о.
Индивидуальные фрагменты линейной ДНК	до 1 нг	до 15 т.п.о.
кДНК	до 10% объема реакционной смеси	до 10 т.п.о.

* Оптимальное количество матрицы в реакции зависит от источника ДНК, копийности, 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.

Протокол

▶ *При постановке ПЦР соблюдайте зонирование помещений. Разделяйте 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;
– в процессе работы все компоненты и пробирку с реакционной смесью держите во льду или в охлажденном штативе;
– 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 5X Taq Red буфером.
– предварительно рассчитайте количество ДНК-матрицы — см. п. «Основные характеристики».

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)

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 — см. п. «Основные характеристики».

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

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

Предварительная денатурация	95 °C	1–3 мин
Циклы ПЦР (оптимизировать)	95 °C	15–20 с
	Tm* (55–68 °C)	15–20 с
	72 °C	от 15 с, зависит от длины ПЦР-фрагмента
Финальная достройка цепи**	72 °C	2–10 мин

* Tm — температура отжига праймеров.

** Финальная достройка цепи не является обязательной стадией; она используется для завершения процесса дупликации одноцепочечных фрагментов (например, при препаративной наработке ДНК).

- 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.

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