

Тақ ДНК-полимераза

Рекомбинантный фермент выделен из штамма *E. coli*, несущего ген Тақ ДНК-полимеразы термостабильной бактерии *Thermus aquaticus* УТ1. Фермент предназначен для рутинных аналитических исследований.

Область применения

- амплификация ДНК (до 5 т.п.о.)
- ПЦР-скрининг
- ник-трансляция
- включение в ДНК меченых нуклеотидов

Кат. #	Кол-во ед.	Состав
PK113S	500 ед.	Тақ ДНК-полимераза, 100 мкл 10X Тақ Turbo буфер, 1.5 мл
PK113L	2500 ед.	Тақ ДНК-полимераза, 5 x 100 мкл 10X Тақ Turbo буфер, 5 x 1.5 мл
PK114	2500 ед.	Тақ ДНК-полимераза, 5 x 100 мкл 10X Тақ Turbo буфер, 5 x 1.5 мл 50X смесь dNTP (10 мМ каждого), 5 x 200 мкл

Активность фермента – 5 ед./мкл. За единицу активности рекомбинантной Тақ 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.

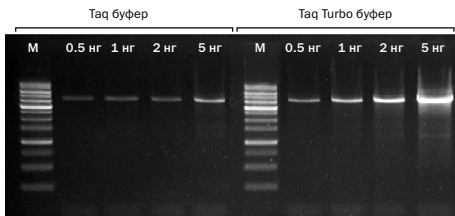
Срок хранения при соблюдении условий хранения и транспортировки – 1 год.

Основные свойства Taq ДНК-полимеразы

- температурный оптимум активности 70-74 °С
- 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 высокоэффективный 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 приводит к появлению неспецифического продукта, а также для систем, 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 фрагмента ДНК фага λ в Taq буфере и в Taq Turbo буфере. Длина фрагмента 5 т.п.о.; 15 циклов ПЦР.

M – маркер; 0.5-5 нг – количество ДНК на старте ПЦР.

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 переосаждением. Для реакции лигирования обычно достаточно 100-200 нг ДНК.

ЗАО Евроген
Москва 117997
ул. Минлухо-Маклая 16/10, корпус 70 (Технопарк ИБХ)
Тел.: +7 (495) 988-4083
Факс: +7 (495) 988-4085
www.evrogen.ru
order@evrogen.ru