

Instrukcja

RUN 5 polimeraza DNA

Polimeraza DNA *Taq* z buforem reakcyjnym. Stężenie 5 U/ μ l.

numer katalogowy	wielkość
1001-200-5	200 U
1001-1000-5	1000 U

Produkt przeznaczony wyłącznie do badań naukowych.

Gwarancja

Firma A&A Biotechnology udziela gwarancji na niniejszy produkt.

Firma nie gwarantuje poprawnego działania produktu w przypadku:

- odstępstwa od dostarczonego wraz z produktem protokołu
- braku zalecanego w niniejszym protokole wyposażenia i materiałów
- użycia innych odczynników niż zalecane lub które nie wchodzą w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Zalety

- Polimeraza DNA *Taq* - najczęściej używana termostabilna polimeraza DNA w technice PCR.
- Polecana do rutynowych reakcji PCR.

Opis

RUN 5 polimeraza DNA jest polimerazą *Taq*, oczyszczaną ze szczepu *E. coli* niosącego plazmid z wklonowanym genem kodującym polimerazę DNA z *Thermus aquaticus*. Enzym katalizuje dołączanie deoksynukleotydów do końca 3' dwuniciowego DNA w obecności jonów Mg^{2+} w temp. 70 - 80 °C.

Polimeraza DNA *Taq* nie posiada aktywności egzonukleazy 3'-5' (aktywność korekcyjna). Posiada natomiast słabą aktywność egzonukleazy 5'-3'.

Skład

	1001-200-5	1001-1000-5	przechowywanie
RUN 5 polimeraza	200 U	1000 U	-20 °C
bufor do przechowywania: 100 mM KCl, 50 mM Tris-HCl pH 8,5, 0,5% Tween 20, 0,5% Triton X-100, 50% glicerol (v/v).			
bufor do RUN	1 x 1,5 ml	4 x 1,5 ml	-20 °C
10x bufor reakcyjny PCR: 100 mM KCl, 100 mM $(NH_4)_2SO_4$, 200 mM Tris-HCl pH 8,5, 20 mM $MgSO_4$, 1% Igepal.			

Definicja jednostki

Jedna jednostka polimerazy DNA jest zdefiniowana jako ilość enzymu, która katalizuje inkorporowanie 15 nmol dNTP w ciągu 30 minut w temperaturze 75°C.

Uwagi

- Przed użyciem konieczne jest całkowite rozmrożenie i dokładne wymieszanie składników zestawu poprzez delikatne odwracanie probówki.

Protokół PCR

1. Rozmrozić składniki zestawu w lodzie, a następnie wymieszać przez odwracanie probówek, zwirować i wstawić ponownie do lodu.
2. Umieścić probówki reakcyjne PCR w lodzie lub zimnym bloku i następnie dodać kolejno:

składnik	objętość	stężenie końcowe
	50 μ l	
bufor do RUN	5 μ l	1X
dNTP Mix (10 mM)	1-1,25 μ l	200-250 μ M
starter 1 (10 μ M)*	1 μ l	0,2 μ M
starter 2 (10 μ M)*	1 μ l	0,2 μ M
RUN 5 polimeraza	0,25 μ l	1,25 U
matryca DNA	zmienna	10 pg - 1 μ g
woda ultraczysta	uzupełnić do 50 μ l	

*W celu optymalizacji należy przeprowadzić miareczkowanie starterów w zakresie od 0,2 μ M do 1 μ M stężenia końcowego.

3. Mieszanie reakcyjną delikatnie zworteksować i krótko zwirować.
4. Probówki umieścić w termocyklerze i uruchomić program. Rekomendowany profil temperaturowo-czasowy:

etap reakcji	temperatura	czas	ilość cykli
wstępna denaturacja	95 °C	2-3 min	1
denaturacja	95 °C	15 s	
przyłączenie starterów*	50-68 °C	30 s	40
wydłużanie**	72 °C	30 s	

* Temperatura przyłączania starterów zależy od zależy od sekwencji startera i składu mieszaniny.

** Czas wydłużania zależy od długości ampliconu.



A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science

A&A Biotechnology, ul. Strzelca 40, 80-299 Gdańsk
tel. 883 323 761, 600 776 268
info@aabiotech.com, www.aabiotech.com

wersja 2024-1

