

Instrukcja

HF PCR Mix

Gotowa do użycia mieszanina do amplifikacji długich fragmentów DNA przeznaczonych do klonowania. Zawiera modyfikowaną polimerazę DNA Pwo o aktywności korektorskiej (3'-5' egzonukleazy), skuteczne narzędzie do amplifikacji trudnych matryc bogatych w pary GC.

numer katalogowy	wielkość
1035-100	100 reakcji w 50 µl
1035-1000	1000 reakcji w 50 µl

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

Opis

HF PCR Mix jest gotową do użycia mieszaniną do PCR przeznaczoną do amplifikacji długich fragmentów DNA z zachowaniem wierności sekwencji DNA i matrycy. Mieszanina zawiera optymalne stężenie modyfikowanej polimerazy DNA Pwo, buforu PCR, MgCl₂, nukleotydów, stabilizatorów, wzmacniaczy reakcji PCR.

Mieszanina zawiera czerwony barwnik oraz bufor obciążający, dlatego próbki po zakończonej reakcji mogą być bezpośrednio nanoszone na żel.

Skład

	1035-100	1035-1000	przechowywanie
HF PCR Mix	4 x 1,25 ml	40 x 1,25 ml	-20 °C

Uwagi

- Przed użyciem całkowicie rozmrozić i starannie wymieszać przez odwracanie probówki.
- Cykliczne, siedmiokrotne rozmrażanie i zamrażanie nie wpływa na wydajność i aktywność produktu.

Proponowany protokół PCR

1. Rozmrozić składniki zestawu w lodzie, a następnie wymieszać przez odwracanie probówek, zwirować i wstawić ponownie do lodu.

2. **Uwaga.** Mieszaninę HF PCR Mix należy dodać jako ostatnią, aby zapobiec degradacji starterów.

Umieścić probówki reakcyjne PCR w lodzie lub zimnym bloku i dodać kolejno:

składnik	objętość	stężenie końcowe
	50 μ l	
starter 1 (10 μ M)	1 μ l	0,2 μ M
starter 2 (10 μ M)	1 μ l	0,2 μ M
matryca DNA	3 μ l	50 -200 ng
HF PCR Mix	45 μ l	

3. Mieszaninę reakcyjną delikatnie zworteksować i krótko zwirować.

4. Probówki umieścić w termocyklerze i uruchomić program.
Proponowany profil PCR:

etap reakcji	temperatura	czas	ilość cykli
wstępna denaturacja	95 °C	2 min	1
denaturacja	95 °C	15 s	25-35
przyłączenie	40-70 °C*	30 s	
wydłużanie	72 °C	30-60 s / 1 kb**	1
wydłużanie końcowe	72 °C	5 min	

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

** Czas wydłużania 60 s rekomendujemy dla produktów o długości powyżej 3000 pz.

5. Po zakończeniu reakcji próbki nanosić bezpośrednio na żel.



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

