

## *Instrukcja*

# WALK polimeraza DNA

Polimeraza DNA Pwo z buforem reakcyjnym. Stężenie 1 U/ $\mu$ l.

numer katalogowy	wielkość
1002-200	200 U
1002-1000	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

- termostabilna polimeraza DNA Pwo (*Pyrococcus woesei*) - high fidelity,
- aktywność korekcyjna
- najwyższy stopień czystości
- polecana do klonowania - pozostawia tępe końce

## Opis

**WALK polimeraza DNA** jest polimerazą Pwo, oczyszczaną ze szczepu *E.coli* niosącego plazmid z wklonowanym genem kodującym polimerazę DNA z *Pyrococcus woesei*.

Jest wysoce procesywną polimerazą DNA 5'-3'. Enzym katalizuje dołączanie deoksynukleotydów do końca 3' dwuniciowego DNA w obecności jonów  $Mg^{2+}$  w temp. 70-80 °C. Produkty polimeryzacji posiadają tępe końce.

Polimeraza DNA Pwo posiada aktywności egzonukleazy 3'-5' (aktywność korekcyjna). Nie posiada wykrywalnej aktywności egzonukleazy 5'-3'.

## Skład

	1002-200	1002-1000	przechowywanie
<b>WALK polimeraza</b>	200 U (1 U/ $\mu$ l)	1000 U (1 U/ $\mu$ l)	-20 °C
bufor do przechowywania: 10 mM KCl, 20 mM Tris-HCl pH 8,7, 0,1 mM EDTA, stabilizatory, 50% glicerol (v/v).			
<b>bufor do WALK</b>	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% Triton X-100.			

## Uwagi

- Przed użyciem całkowicie rozmrozić i starannie wymieszać przez odwracanie probówki.

## Proponowany protokół przygotowania reakcji PCR

1. Całkowicie rozmrozić i wymieszać wszystkie komponenty niezbędne do nastawienia reakcji PCR. Krótko zwirować i wstawić ponownie do lodu.
2. Umieścić probówki reakcyjne PCR w lodzie i dodać kolejno:

	objętość reakcji PCR
<b>składnik</b>	<b>50 µl</b>
<b>bufor do WALK</b>	5 µl
<b>dNTP Mix (10 mM)</b>	200-250 µM (1-1,25 µl)
<b>Starter 1</b>	0,1-0,5 µM
<b>Starter 2</b>	0,1-0,5 µM
<b>WALK polimeraza</b>	1-2 U
<b>Matryca DNA</b>	10 pg - 1 µg
<b>Woda jałowa</b>	uzupełnić do 50 µl

3. Mieszanie reakcyjną delikatnie wymieszać i zwirować.
4. Probówki umieścić w termocyklerze i uruchomić program.

Proponowany profil PCR dla produktów do 1000 pz:

etap	temperatura	czas
<b>Wstępna denaturacja</b>	94 °C	1-5 min
<b>25-45 cykli</b>	94 °C	30-60 s
	50-68 °C	30-60 s
	72 °C	2 min
<b>Wydłużanie końcowe</b>	72 °C	5-10 min

W przypadku dłuższych fragmentów zalecamy wydłużyć czas elongacji dwukrotnie w stosunku do czasów stosowanych dla polimerazy *Taq* (RUN polimeraza DNA).

5. Po zakończeniu reakcji próbki przechowywać w lodówce lub zamrażarce do czasu dalszych analiz.



**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 2023-2

