

Тaq ДНК-полимераза

Кат. ## РК113S, РК113L, РК113Н, РК114

Версия 2 от 28 февраля 2023 г.

Тaq ДНК-полимераза предназначена для рутинных аналитических исследований.

Тaq ДНК-полимераза получена из штамма *E.coli*, экспрессирующего ген *polA* термостабильной бактерии *Thermus aquaticus* YТ1.

Только для использования в научно-исследовательских целях.

Состав

Кат. #	Кол-во е. а.	Кол-во р-ций по 25 мкл	Состав
РК113S	500	400–2 000	Taq DNA Polymerase, 100 µl 10X Taq Turbo buffer, 1.5 ml
РК113L	2 500	2 000–10 000	Taq DNA Polymerase, 500 µl (5 x 100 µl) 10X Taq Turbo buffer, 7.5 ml (5 x 1.5 ml)
РК113Н	5 000	4 000–20 000	Taq DNA Polymerase, 1 ml (10 x 100 µl) 10X Taq Turbo buffer, 15 ml (10 x 1.5 ml)
РК114	2 500	2 000–10 000	Taq DNA Polymerase, 500 µl (5 x 100 µl) 10X Taq Turbo buffer, 1.5 ml (5 x 1.5 ml) dNTP mix (10 mM each), 1 ml (5 x 200 µl)

За единицу активности рекомбинантной Тaq 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 годности: 12 месяцев с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

Область применения

- Амплификация ДНК.
- ПЦР-РВ с TaqMap-зондами.
- ПЦР-РВ с интеркалирующими красителями.
- ПЦР-скрининг.

Основные характеристики

- Без «горячего старта».
- Температурный оптимум активности: 70–74 °С.
- 5′→3′ экзонуклеазная активность.
- Отсутствует 3′→5′ экзонуклеазная активность (корректирующая).
- Длина амплифицируемых фрагментов до 5 т. п. о.
- Возможность клонирования продуктов ПЦР в ТА-вектор.

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.

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 Taq Red буфером.

- предварительно рассчитайте количество ДНК-матрицы (см. п. 5).

► *Дополнительные компоненты возможно приобрести отдельно — информация приведена в конце инструкции.*

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
Taq DNA Polymerase	0.05–0.25 мкл (в зависимости от концентрации, чистоты ДНК-матрицы и длины ПЦР-продукта)

* Рекомендуется использовать смесь dNTP (10 мМ каждого) (кат. ## PB006S/L, Евроген).

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. Оптимальная концентрация матрицы в реакции зависит от источника ДНК, 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.

Тип матрицы	Оптимальное количество
Плазмидная и фаговая ДНК	0.01–1 нг
Геномная ДНК бактерий	0.1–10 нг
Геномная ДНК эукариот	10–500 нг
Индивидуальные фрагменты линейной ДНК	0.001–0.1 нг
кДНК	0.001–10 нг

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

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

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

- 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. Tm — температура отжига праймеров.
- Финальная достройка цепи не является обязательной стадией; она используется для завершения процесса дупликации одноцепочечных фрагментов (например, при препаративной наработке ДНК).

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)

ЗАО Евроген

Москва 117997

ул. Миклухо-Маклая 16/10, к. 15

Тел.: +7 (495) 784-7084

order@evrogen.ru

www.evrogen.ru