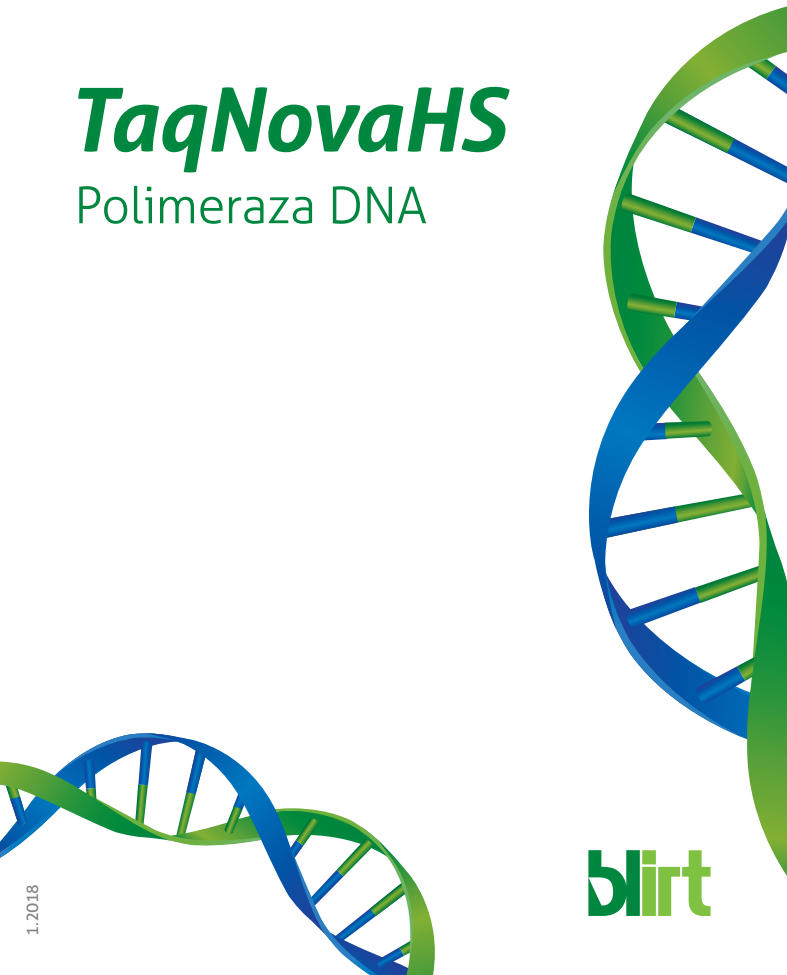


TaqNovaHS

Polimeraza DNA



TaqNovaHS

Polimeraza DNA

Polimeraza **TaqNovaHS** jest mieszaniną rekombinowanej termostabilnej polimerazy DNA *Taq* wyizolowanej z *Thermus aquaticus* i wysoce specyficznego przeciwciała monoklonalnego, blokującego aktywność polimerazy DNA. Polimeraza **TaqNovaHS** umożliwia nastawianie reakcji typu hot-start PCR w temperaturze pokojowej. Przeciwciało wiąże się w sposób odwracalny z enzymem, hamując aktywność polimerazy w temp. otoczenia, co uniemożliwia amplifikację starterów-dimerów oraz innych niespecyficzných produktów PCR, tworzonych w niskich temperaturach w czasie nastawiania reakcji PCR. Przeciwciało jest uwalniane od polimerazy DNA podczas reakcji PCR. Do aktywacji enzymu nie jest wymagany dodatkowy etap inkubacji.

Polimeraza **TaqNovaHS** polecana jest do szerokiego zakresu zastosowań, w szczególności do tych, które wymagają wysoce specyficznęj amplifikacji. Polimeraza **TaqNovaHS** jest wszechstronną i łatwą w użyciu polimerazą DNA, pracującą bardzo szybko i wydajnie w różnych warunkach reakcji PCR, umożliwiającą amplifikację produktów o długości do 5 kpz. Enzym katalizuje syntezę DNA w kierunku 5'→3', nie wykazuje aktywności 3'→5' egzonukleazy, natomiast posiada aktywność 5'→3' egzonukleazy.



Właściwości i zalety

- Minimalizuje amplifikację niespecyficycznych produktów PCR oraz starterów-dimerów
- Szybka 3-minutowa aktywacja enzymu
- Wysoka wydajność amplifikacji przy minimalnej ilości enzymu bez konieczności czasochłonnej optymalizacji
- Podwyższona czułość reakcji PCR
- Odpowiednia do wielu różnych zastosowań
- Amplifikuje fragmenty DNA do 5 kpz
- Dodaje 'A' na końcach 3'

Zastosowania

- Hot-start PCR
- Multiplex PCR
- Real-Time PCR
- Diagnostyczny PCR
- Specyficzna amplifikacja trudnych matryc (np. bogatych w GC)

TaqNovaHS

Polimeraza DNA

Przygotowanie reakcji PCR

1. Rozmrozić odczynniki, dokładnie wymieszać, a następnie krótko zwirować.
2. Dodać następujące składniki mieszania do sterylnej, wolnej od nukleaz próbówki PCR w kolejności zamieszczonej w tabeli poniżej.

Składnik	Sugerowana ilość na reakcję	Dopuszczalne stężenie końcowe w mieszaninie reakcyjnej
bufor 10x <i>TaqNovaHS</i>	5 µl	1x
8 mM dNTPs Mix	5 µl	0,2–0,25 mM każdego dNTP
50 mM MgCl ₂	2 µl	2–5 mM
starter Forward (10 µM)	1 µl	0,1–1,0 µM
starter Reverse (10 µM)	1 µl	0,1–1,0 µM
matrycowe DNA	1–100 ng	10 pg–0,5 µg
polimeraza <i>TaqNovaHS</i>	1,5 U	1–3 U
woda (PCR-grade)	dodać do 50 µl	

3. Tak przygotowaną mieszaninę reakcyjną należy wymieszać przez pipetowanie lub worteksowanie i krótko zwirować.
4. Następnie umieścić w bloku grzejnym termocyklera i prowadzić reakcję PCR.



5. W poniższej tabeli zamieszczono sugerowany profil temperaturowo-czasowy.

Etap	Temperatura	Czas	
denaturacja wstępna	95°C	2–5 min ⁽¹⁾	
denaturacja	95°C	30 s	
przyłączanie starterów	45–65°C ⁽²⁾	30 s	25–40 cykli ⁽⁴⁾
wydłużanie	72°C	15 s–2 min ⁽³⁾	
wydłużanie końcowe	72°C	1–5 min	
chłodzenie	4°C	∞	

- 1) Czas denaturacji wstępnej zależy od zawartości par GC w obrębie amplifikowanego regionu i rodzaju matrycy DNA. Minimalny czas denaturacji jest powiązany z minimalnym czasem aktywacji enzymu i wynosi 2 minuty. Dla matryc takich jak plazmidowe DNA i cDNA zaleca się stosowanie krótszych czasów etapu denaturacji wstępnej (2 min). Dla bardziej kompleksowych matryc (np. eukariotyczne genomowe DNA), wymagane są dłuższe czasy denaturacji wstępnej (2–5 min).
- 2) Temperatura przyłączania starterów zależy od sekwencji DNA oraz ich temperatury topnienia. Optymalna temperatura przyłączania jest zwykle niższa o 2–5°C niż średnia temperatura topnienia pary starterów.
- 3) Czas elongacji zależy od długości amplifikowanego fragmentu DNA. Zaleca się stosować 30 sekund na każde 1000 pz produktu PCR.
- 4) Liczba cykli zależy od liczby kopii amplifikowanego fragmentu DNA. W przypadku małych ilości matrycy DNA należy zwiększyć liczbę cykli do 40.

Bufor do przechowywania

20 mM Tris-HCl (pH 8,0, 25°C), 100 mM KCl, 0,1 mM EDTA, 1 mM DTT,
0,5% (v/v) Nonidet P40, 0,5% (v/v) Tween 20, 50% (v/v) glicerol.

Możliwe problemy i ich rozwiązywanie

Problemy, które mogą wystąpić podczas nastawiania reakcji PCR i analizy wyników, ich przyczyny oraz sugerowane rozwiązania są opisane na stronie: www.blirt.eu.

Kontrola jakości

Preparat wolny od DNaz. Szczegółowo testowany w reakcjach PCR.

Definicja jednostki

Jedna jednostka to ilość enzymu wystarczająca do przyłączenia 10 nmoli deoksynukleotydów do nierozpuszczalnej frakcji DNA w czasie 30 minut w temp. 72°C w 50 µl reakcji.

Polimeraza DNA *TaqNovaHS*

Zawartość	RP902A 200 U	RP905A 500 U	RP910A 1000 U	RP925A 2500 U	P902A-S 20 U
Polimeraza <i>TaqNovaHS</i> 5 U/μl					
<i>TaqNovaHS</i> 5 U/μl Polimeraza DNA	40 μl	100 μl	200 μl	500 μl	4 μl
10x <i>TaqNovaHS</i> Bufor reakcyjny	1.25 ml	2x 1.25 ml	4x 1.25 ml	10x 1.25 ml	100 μl
50 mM MgCl ₂	1 ml	2x 1 ml	4x 1 ml	10x 1 ml	80 μl
Zawartość	RP902 200 U	RP905 500 U	RP910 1000 U	RP925 2500 U	P902-S 20 U
Polimeraza <i>TaqNovaHS</i> 2 U/μl					
<i>TaqNovaHS</i> 2 U/μl Polimeraza DNA	100 μl	250 μl	500 μl	1250 μl	10 μl
10x <i>TaqNovaHS</i> Bufor reakcyjny	1.25 ml	2x 1.25 ml	4x 1.25 ml	10x 1.25 ml	100 μl
50 mM MgCl ₂	1 ml	2x 1 ml	4x 1 ml	10x 1 ml	80 μl

Przechowywanie i transport

Warunki przechowywania

Przechowywać w temp. -20°C.

Warunki transportu

Transport w warunkach chłodniczych.

 do badań naukowych

Data ważności

Informacja na etykiecie

BLIRT S.A.

orders@blirt.eu | www.blirt.eu

blirt