

Datenblatt

my-Budget Taq-DNA-Polymerase

Artikel-Nr.	Bestellmenge
80-60010020	20 µl (100 Units)
80-60010100	100 µl (500 Units)

(Nur für Forschung und *in vitro*-Anwendungen)

Chargen-Nr.:

Mindestens haltbar bis:

Aussehen: klare Flüssigkeit

Farbe: transparent

Konzentration: 5 Units/µl

Lieferumfang: (● = farbige Deckelcodierung)	Packungsgröße:	100 Units	500 Units
	● Taq-DNA-Polymerase (5 U/µl)	20 µl	100 µl
	● Reaktionspuffer B (10x)	300 µl	1.500 µl
	● Reaktionspuffer BD (10x)	300 µl	1.500 µl
	● MgCl ₂ -Lösung (25 mM)	300 µl	1.500 µl
	● Lösung S (10x)	20 µl	200 µl

Technische Daten

Quelle: Ursprungsform ist die thermostabile DNA-Polymerase, die aus dem thermophilen Bakterium *Thermus aquaticus* isoliert wurde. Das vorliegende Enzym ist rekombinant in *E. coli* exprimiert.

Analysebedingungen: 25 mM Tris•HCl (pH 9,0 bei 25°C), 50 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 0,1 mg/ml Gelatine, 200 µM von je dATP, dGTP, dTTP, 100 µM [α^{32} P]dCTP (0,05 µCi/nmol), 12,5 µg aktivierte Lachs-sperma-DNA.

Unitdefinition: Ein Unit ist die Enzymmenge, die benötigt wird, um 10 nmol dNTP in 30 Minuten bei 74°C in eine säureunlösliche Form umzuwandeln.

Lager- und Verdünnungspuffer: 50% Glycerol (v/v), 20 mM Tris•HCl (pH 8,7 bei 25°C), 100 mM KCl, 0,1 mM EDTA und Stabilisatoren.

Enzymaktivitäten: *my-Budget* Taq-DNA-Polymerase ist eine hochprozessive 5' → 3'-DNA-Polymerase mit 5' → 3'-Exonukleaseaktivität. Eine 3' → 5'-Exonukleaseaktivität fehlt vollständig. Zusätzlich fügt das Enzym einzelne Nukleotide (fast ausschließlich Adenosin) an die 3'-Enden der DNAs an, so dass eine TA-Klonierung ohne weitere Modifizierungen möglich ist.

Anwendungs- & Qualitätskontrolle: Primer-Extensionsreaktionen: das Enzym ist frei von Nicking- und Primeraktivitäten sowie von Exonukleasen und unspezifischen Endonukleasen. SDS/PAGE: 95 kD- Bande, Reinheit >98%. Aktivität und Stabilität wurden mittels PCR getestet. Die Fehlerrate pro Nukleotid pro Zyklus ist $\sim 8.3 \times 10^{-5}$; die Genauigkeit $\sim 1.2 \times 10^{-4}$. Die Halbwertszeit beträgt bei 95°C 90 Minuten.

Reaktionspuffer und Lösung S

- **10x Reaktionspuffer B** (frei von Mg^{2+}):
800 mM Tris•HCl (pH 9,4 - 9,5 bei 25°C), 200 mM $(NH_4)_2SO_4$, 0,2% w/v Tween-20.
- **10x Reaktionspuffer BD** (frei von Mg^{2+} und Detergenzien):
800 mM Tris•HCl (pH 9,4 - 9,5 bei 25°C), 200 mM $(NH_4)_2SO_4$.

►►► **Die Reaktionspuffer B und BD sowie das 25 mM $MgCl_2$ sollten routinemäßig bei -20°C gelagert werden. Puffer B nicht im Kühlschrank aufbewahren!**

Additiv: Lösung S (10x) eignet sich zur Verbesserung der Amplifikationsergebnisse bei schwierigen DNA-Templates (z. B. GC-reiche Templates). Die Lösung sollte nur in einer definierten Konzentration (1x, 2x oder 3x Konzentration) und zusätzlich zum Reaktionspuffer B oder BD eingesetzt werden.

►►► **Lösung S ersetzt nicht den Reaktionspuffer und sollte nur dann als weiterer Zusatz verwendet werden, wenn unspezifische Amplifikate auftreten!**

Protokoll

- Reaktionspuffer B oder BD (Endkonzentration 1x), evtl. zusätzlich Lösung S
- H_2O
- $MgCl_2$ (Endkonzentration 2,0 - 2,5 mM; empfohlen: 2,5 mM)
- dNTPs (200 μ M)
- DNA-Template (5 - 500 ng/100 μ l Reaktionsvolumen)
- Primer (30 - 100 pmol/100 μ l Reaktionsvolumen)
- Polymerase (2 - 5 U/100 μ l Reaktionsvolumen, für schwierige Templates bis zu 10 U/100 μ l)

►►► **Die einzelnen Komponenten sollten in obiger Reihenfolge pipettiert werden!**

Versand: bei Raumtemperatur

Lagerung: bei -20°C

Sicherheitshinweis: Dieses Produkt sollte nur von Personen verwendet werden, die Routine in Laboranwendungen haben. Es sollte laborübliche Schutzkleidung wie Kittel, Handschuhe und Schutzbrillen getragen werden. Bei Kontakt mit Haut und Augen sollten die betroffenen Stellen umgehend mit Wasser gewaschen bzw. ausgespült werden.

Anwendungshinweis: In bestimmten Ländern sind einige Anwendungen, für die dieses Produkt eingesetzt werden kann, patentrechtlich geschützt. Da durch den Kauf keine Lizenzen erworben werden, kann abhängig vom Anwendungsland und der Anwendung der Erwerb entsprechender Lizenzrechte erforderlich sein.