

Synta-Ab Taq ДНК-полимераза

Описание

Synta-Ab Taq ДНК-полимераза представляет собой смесь рекомбинантного аналога ДНК-полимеразы из термофильной бактерии *Thermus aquaticus* и специфических моноклональных антител. Фермент обладает 5'-3' полимеразной активностью и 5'-3' экзонуклеазной активностью, не обладая при этом корректирующей 3'-5' экзонуклеазной активностью. **Synta-Ab Taq ДНК-полимераза** предназначена для использования в большинстве рутинных ПЦР-исследований, в том числе ПЦР в режиме реального времени.

Инактивация полимеразы с помощью антител позволяет проводить подготовку смесей при комнатной температуре. «Горячий» старт обеспечивает повышение специфичности амплификации. Диссоциация комплекса и высвобождение **Synta-Ab Taq ДНК-полимеразы** обеспечивается прогреванием выше 70°C.

Оптимальная температура работы фермента – 72-74°C. **Synta-Ab Taq ДНК-полимераза** включает при амплификации дУТФ, поэтому можно использовать в реакции ПЦР урацил-содержащие праймеры или матрицы. Длина амплифицируемых фрагментов – до 5 тыс. п.н.

Выделена из штамма *Escherichia coli*, несущего ген ДНК-полимеразы из *Thermus aquaticus*. Содержит N-концевой (His)₆-таг.

Артикул	Наименование	Состав, описание	Количество
ES00003	Synta-Ab Taq ДНК-полимераза, 5 000 ед./мл	Synta-Ab Taq, 5 000 ед./мл – 0,2 мл 5x ПЦР-буфер – 2 x 1,25 мл	1 000 ед.
EM00003		Synta-Ab Taq, 5 000 ед./мл – 5 x 0,2 мл 5x ПЦР-буфер – 10 x 1,25 мл	5 000 ед.
EB00003		Synta-Ab Taq, 5 000 ед./мл	Под заказ *

* - минимальный объем заказа – 5 мл.

За одну единицу активности принимается количество фермента, необходимое для перевода 10 нмоль dNTP в кислото-нерастворимую фракцию за 30 минут при +74°C.

Область применения

- Рутинная ПЦР
- Низкокопийная ПЦР
- Мультиплексная ПЦР
- ПЦР с детекцией в режиме реального времени (с зондами, интеркалирующими красителями)

Буфер для хранения:

Состав: 20 мМ Трис/НСl, рН 8,3 (при 25°C); 100 мМ КСl; 1 мМ 1-тиоглицерин; 0,1 мМ ЭДТА; 0,5% твин-20; 50% глицерин.

Буфер для проведения реакции (1x ПЦР-буфер):

Состав: 70 мМ Трис/НСl (рН 8.8 при 25°C); 17 мМ (NH₄)₂SO₄; 4 мМ MgSO₄; 0,01% твин-20; 0,1 мг/мл БСА; 8% глицерин.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Synta-Ab Taq ДНК-полимераза

По желанию заказчика Synta-Ab Taq ДНК-полимераза может быть укомплектована реакционным буфером по прописи заказчика (артикул ВВ00003).

Контроль качества

Неспецифическая экзодезоксирибонуклеазная активность

Инкубация 10 ед. фермента с 1 мкг лямбда ДНК/Hind III при 37°C в течение 4 часов не приводит к видимой деградации фрагментов ДНК (по результатам агарозного гель-электрофореза).

Неспецифическая эндодезоксирибонуклеазная активность

Инкубация 10 ед. фермента с 0,6 мкг ДНК рBR322 при 37°C в течение 4 часов не приводит к видимому изменению электрофоретической подвижности ДНК (по результатам агарозного гель-электрофореза).

Функциональное тестирование

Аmplификация фрагментов разной длины (200 – 5 000 п.н.) с последующей детекцией продуктов реакции в режиме реального времени (с интеркалирующим красителем) и методом агарозного гель-электрофореза.

Условия хранения и транспортирования

Температура хранения: от минус 24 С до минус 16 С.

Транспортировать в термоконтейнере с хладоэлементами, при температуре от 2 до 8 С не более 7 суток.

Срок хранения при соблюдении условий хранения и транспортировки – 24 месяца с момента производства.

Рекомендации по проведению амплификации

1. Состав реакционной смеси:

Компонент	На 25 мкл реакции	На 50 мкл реакции	Конечная концентрация
5-кратный ПЦР-буфер	5 мкл	10 мкл	1-кратный (4 мМ MgSO ₄)
10 мМ смесь дНТФ (50х)	0,5 мкл	1 мкл	0,2 мМ каждого
Прямой праймер, 10 мкМ	1 мкл	2 мкл	0,4 мкМ
Обратный праймер, 10 мкМ	1 мкл	2 мкл	0,4 мкМ
ДНК-матрица	X мкл	X мкл	10 пг – 200 нг
Synta-Ab Taq ДНК-полимераза	0,5 мкл	1 мкл	0,1 ед./мкл
Вода для ПЦР	До 25 мкл	До 50 мкл	---

- Приготовление реакционной смеси можно проводить на рабочем столе при комнатной температуре. Последовательность добавления компонентов не имеет значения.
- 5-кратный ПЦР-буфер представляет собой 5-кратный реакционный буфер, подходящий для использования в реакции ПЦР. 5-кратный ПЦР-буфер содержит 20 мМ MgSO₄, что соответствует 4 мМ MgSO₄ в реакционной смеси. При необходимости подбора

концентрации ионов Mg^{2+} в реакционной смеси можно использовать ПЦР-буфер без солей магния (артикул BS00002) и 100 мМ раствор сульфата магния (артикул RS00001). Рекомендуемая концентрация ионов Mg^{2+} в реакции ПЦР – 1 - 4 мМ.

- Для минимизирования возможной ошибки пипетирования рекомендуется приготовить реакционную смесь, содержащую все компоненты, кроме ДНК-матрицы, в расчете на нужное количество реакций плюс одна. Внести в пробирки аликвоты реакционной смеси и затем добавить требуемое количество ДНК-матрицы.
- После приготовления реакционной смеси пробирки поместить в амплификатор, предварительно нагретый до 95°C. Если в амплификаторе отсутствует нагревающаяся крышка, то в каждую пробирку необходимо добавить каплю минерального масла.

2. Условия термоциклирования:

Шаг	Протокол 1 (с отжигом праймеров)		Протокол 2 (без отжига праймеров)		Количество циклов
	Темп-ра	Время	Темп-ра	Время	
Предварительная денатурация // активация Synta-Ab Taq	95°C	2-3 мин	95°C	2 – 3 мин	1
Денатурация	95°C	5 – 10 с	95°C	5 – 10 с	25 - 35
Отжиг	Тпл(50-68)°C	10 – 30 с	--	--	
Элонгация	72°C	60 с / 1 т.п.н.	72°C	60 с / 1 т.п.н.	
Элонгация финальная	72°C	5 – 10 мин	72°C	5 – 10 мин	1

Тпл – температура отжига праймеров.

- При температуре плавления праймеров ниже 68°C рекомендуется проводить амплификацию по Протоколу 1. Если температура отжига праймеров выше 68°C, то предпочтительнее использовать для амплификации Протокол 2.
- Рекомендуемая температура элонгации – 72°C. Время элонгации для большинства ДНК-матриц составляет 60 с на каждую тыс. п.н. Время элонгации может быть сокращено до 30-45 с / 1 т.п.н для плазмид. Для «сложных» или протяженных матриц может потребоваться увеличить время элонгации до 90 с / 1 т.п.н.