

# Hot-Start Taq-DNA-Polymerase

## Datenblatt

**Bestell-Nr.: 80.660.10020      20 µl (100 Units)**  
**Bestell-Nr.: 80.660.10100      100 µl (500 Units)**

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

Chargen-Nr.:	HF05258		
Mindestens haltbar bis:	06/2013		
Aussehen:	klare Flüssigkeit		
Farbe:	transparent		
Lieferumfang: (● = farbige Deckelcodierung)	Packungsgröße:	100 Units	500 Units
	● HS Taq-DNA-Polymerase (5 U/µl)	20 µl	100 µl
	● Reaktionspuffer A1 (10x)	300 µl	1.500 µl
	● Reaktionspuffer B1 (10x)	300 µl	1.500 µl
	● Reaktionspuffer B2 (10x)	300 µl	1.500 µl
	● MgCl <sub>2</sub> -Lösung (25 mM)	300 µl	1.500 µl
	● Lösung S (10x)	20 µl	200 µl

**Konzentration:** 5 Units/µl

<p><b>Bio&amp;SELL</b>  Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg</p>	<p>E-Mail: <a href="mailto:info@bio-sell.de">info@bio-sell.de</a> Internet: <a href="http://www.bio-sell.de">www.bio-sell.de</a></p>	<p>Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33</p>
---	--	--

## Technische Daten

**Quelle:** Ursprungsform ist die thermostabile DNA-Polymerase, die aus dem thermophilen Bakterium *Thermus aquaticus* isoliert wurde. Bei dem vorliegenden Enzym handelt es sich um eine modifizierte Variante, die rekombinant in *E. coli* exprimiert wurde. *Bio&SELL* Hot-Start Taq-DNA-Polymerase wird durch Inkubation bei 95°C über einen Zeitraum von 15 Minuten aktiviert. Dadurch wird die unspezifische Bindung von Primern und die Bildung von Primer-Dimeren bei niedrigen Temperaturen zu Beginn der PCR verhindert.

**Unitdefinition:** Ein Unit ist die Enzymmenge, die benötigt wird, um 10 nmol dNTP in 30 min 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:** *Bio&SELL* Hot-Start 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 liegt bei  $\sim 2.5 \times 10^{-5}$ ; die Genauigkeit bei  $\sim 4 \times 10^{-4}$ . Die Halbwertszeit beträgt bei 95°C 90 min.

## Reaktionspuffer und Lösung S

- **10x Reaktionspuffer A1** (frei von  $Mg^{2+}$  und Detergenzien): Tris•HCl, KCl
- **10x Reaktionspuffer B1** (frei von  $Mg^{2+}$  und Detergenzien): Tris•HCl,  $(NH_4)_2SO_4$
- **10x Reaktionspuffer B2** (frei von  $Mg^{2+}$ ): Tris•HCl,  $(NH_4)_2SO_4$ , Detergenzien

Als Standardpuffer werden die Reaktionspuffer B1 oder B2 empfohlen. Für weitere Optimierungen steht Puffer A1 zur Verfügung.

**Die Reaktionspuffer sowie das 25 mM  $MgCl_2$  sollten routinemäßig bei -20°C gelagert werden.**

**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 zu einem der Reaktionspuffer eingesetzt werden.

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

<p><b>Bio&amp;SELL</b></p> <p>Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg</p>	<p>E-Mail: <a href="mailto:info@bio-sell.de">info@bio-sell.de</a> Internet: <a href="http://www.bio-sell.de">www.bio-sell.de</a></p>	<p>Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33</p>
---	--	--

# Hot-Start Taq-DNA-Polymerase

## Protokoll

**Als Standardpuffer werden die Reaktionspuffer B1 oder B2 empfohlen. Für weitere Optimierungen steht Puffer A1 zur Verfügung.**

Die einzelnen Komponenten sollten in nachfolgender Reihenfolge pipettiert werden:

- 10x Reaktionspuffer, evtl. zusätzlich Lösung S
- H<sub>2</sub>O
- MgCl<sub>2</sub>
- dNTPs
- DNA-Template
- Primer
- Polymerase

### Reaktionsmix:

Komponente	Volumen	Endkonzentration
10x Reaktionspuffer	10 µl	1x
25 mM MgCl <sub>2</sub>	6 – 10 µl	1,5 – 2,5 mM
20 mM dNTP-Mix	1 µl	200 µM
Forward-Primer (10 pmol/µl)	1 - 3 µl	0,1 - 0,3 µM
Reverse-Primer (10 pmol/µl)	1 - 3 µl	0,1 - 0,3 µM
DNA-Template	5 – 20 µl	5 – 100 ng
10x Lösung S (falls erforderlich)	10, 20 oder 30 µl	1x, 2x oder 3x
Hot-Start Taq-Polymerase (5 U/µl)	0,4 – 1,0 µl	0,02 – 0,05 U/µl (2 -5 U)
H <sub>2</sub> O PCR grade	Auffüllen auf 100 µl	
Gesamt	100 µl	

**Um die Polymerase zu aktivieren, müssen Sie Ihre PCR mit einem Inkubationsschritt bei 95°C für 12 - 15 Minuten starten.**

Die Annealingtemperatur sollte 2 – 6°C unter der Schmelztemperatur der Primer liegen.  
Die Elongationszeit sollte ~ 1 min/1 kb betragen.

### Empfohlenes PCR-Protokoll:

Schritt	Temperatur	Zeit	Zyklen
Initiale Denaturierung	95°C	12 – 15 min	1
Denaturierung	95°C	30 – 60 sec	26 - 35
Annealing	50 – 68°C	30 – 60 sec	
Elongation	72°C	1 – 4 min	
Finale Elongation	72°C	5 – 10 min	1

<p><b>Bio&amp;SELL</b></p> <p>Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg</p>	<p>E-Mail: <a href="mailto:info@bio-sell.de">info@bio-sell.de</a> Internet: <a href="http://www.bio-sell.de">www.bio-sell.de</a></p>	<p>Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33</p>
---	--	--



# Hot-Start Taq-DNA-Polymerase

Versand: bei Raumtemperatur

Lagerung: bei -20 °Celsius

Lagerung bei Raumtemperatur für bis zu 1 Monat hat keinen Einfluss auf die Qualität der Hot-Start Taq-DNA-Polymerase.

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.

## Notizen

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

<b>Bio&amp;SELL</b> Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: <a href="mailto:info@bio-sell.de">info@bio-sell.de</a> Internet: <a href="http://www.bio-sell.de">www.bio-sell.de</a>	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33
---	--	--