

DFS-Plus Taq DNA Polymerase

Features:

Durch die Optimierung der Reaktionspuffer und spezielle Additive der bewährten DFS-Taq DNA Polymerase entstand eine Polymerase, die nicht nur frei von bakterieller DNA ist, sondern auch sehr robust gegenüber PCR-Inhibitoren reagiert (Biomoleküle wie Polysacchariden, Fette und Proteine). Gesteigerte Performance des Enzyms sichert überlegene Sensitivität und zuverlässige Amplifikation.

Beschreibung:

Die Polymerase repliziert DNA bei 72 °C. Sie katalysiert die Polymerisation von Nukleotiden zu Doppelstrang-DNA in 5'→3' Richtung und besitzt 5'→3' Exonuklease-Aktivität.

Anwendungsbereich:

Anstelle von konventionell gereinigter Taq-DNA-Polymerase für sensitive PCR Untersuchungen, Nachweise von Bakterien-DNA oder wenn Biomoleküle die PCR inhibieren.

Konzentration:

5 units/µl gelöst in 10 mM KPO₄ (pH 7.4 bei 25 °C), 0.1 mM EDTA, 0.1%, Tween 20, 0.1 % Triton X-100 und 50 % (v/v) Glycerin.

Unitdefinition:

Ein Unit ist die Enzymmenge, die bei 74 °C in 30 min 10 nmol Desoxyribonukleotide in TCA-fällbares, säureunlösliches Material umwandelt

Qualitätskontrollen:

Endonukleasen:

- Eine Inkubation von 20 Units des Enzyms in 50 µl 1x Reaktionspuffer mit 1 µg Lambda DNA für 16 h bei 65 °C ergibt keinen nachweisbaren DNA-Abbau.
- Eine Inkubation von 20 Units des Enzyms in 50 µl 1x Reaktionspuffer mit 1 µg Lambda EcoR I/Hind III-Fragmenten für 16 h bei 65 °C führt zu keinem nachweisbaren Abbau der DNA.
- Eine Inkubation von 32 Units des Enzyms in 50 µl 1x Reaktionspuffer mit 1 µg supercoiled pUC18 DNA für 16 h bei 70 °C resultiert in keiner Entwindung der DNA.

Priming-Aktivität:

- Eine Inkubation von 40 Units des Enzyms in 100 µl 1x Reaktionspuffer mit 100 ng Template-DNA und je 0.2 mM dNTPs führt ohne Primer zu keiner DNA-Synthese.

PCR-Test:

- Gute DNA-Amplifikationen wurden bei Verwendung von Lambda-DNA (amplifiziertes Fragment 12 kb) und humaner Plazenta-DNA (amplifiziertes Fragment 3.0 kb) als Templates erreicht.

DNA-Gehalt

- Frei von Kontaminationen mit enterobakterieller DNA.

Reaktionspuffer:

DFS-Plus Taq DNA Polymerase wird mit zwei Ammoniumsulfat Puffern und MgCl₂ (100mM) geliefert.

Reaktionspuffer (x10) "incomplete": 160 mM (NH₄)₂SO₄, 670 mM TrisHCl pH 8.8, 0.1% Tween-20, Additive

Reaktionspuffer (x10) "complete": 160 mM (NH₄)₂SO₄, 670 mM TrisHCl pH 8.8, 0.1% Tween-20, Additive, 25 mM MgCl₂

Lagerung:

Um das Wachstum von Bakterien zu verhindern, die während der Verwendung in die Lösungen eingebracht werden können, wird eine Lagerung bei -20 °C empfohlen.

Transport: Mit Kühlakkus



Komponenten	Volumen pro Reaktion
10X Reaktionspuffer	5 µl
100 mM MgCl ₂	optional
dNTP-Mix (40mM)	1.0 µl
Up-stream Primer (10 µM stock)	0,5-2.5 µl
Down-stream Primer (10µM stock)	0.5-2,5 µl
Template DNA	0.1-15 ng/ml Plasmid DNA 1-10 µg/ml genomische DNA
DFS-Plus Taq DNA Pol. (5 u/µl)	0.1 - 0.8 µl
Steriles dest. Water (PCR-Grade)	bis 50 µl Reaktionsvolumen

Hinweis:

- Alle Komponenten vor dem Ansatz vortexen
- Reaktionsgemisch bei Raumtemperatur ansetzen
- Das Enzym nach der Template-DNA zusetzen
- Möglicherweise ist es erforderlich die MgCl₂ zu optimieren

Standard-PCR-Protokoll:

Schritt	Zeit	Temperatur
Erste Denaturierung	ca. 5 min	94-95 °C
25-30 Zyklen:		
Denaturierung	10-25 sec	94-95 °C
Annealing	10-25 sec	55-65 °C
Extension	60 sec	72 °C pro 1kb
Schluss-Extension	5 min	72 °C

Bestellinformation:

Kat.-Nr.	Beschreibung	Menge
N140	Maximo DFS-Plus Taq Polymerase	500 units
N142	Maximo DFS-Plus Taq Polymerase	5x500 units
N144	Maximo DFS-Plus Taq Polymerase	20x500 units

.. a good decision ..