

Product Catalogue 2011 - 2012

Enzymes and Chemicals for PCR

GeneON GmbH

Hubertusstraße 20
D-67065 Ludwigshafen

Phone: +49-621-5720 864

Fax: +49-621-5724 462

E-Mail: info@geneon.net

Web: www.geneon.net

Content

Enzymes for Molecular Biology

T4 DNA Ligase..... 8- 9

Chemicals for Molecular Biology

Agarose..... 12-13

Proteinase K..... 14-15

IPTG..... 16-17

Bovine Serum Albumin - BSA..... 18-19

UDG (Uracil-DNA Glycosylase)..... 20-21

Enzymes/Chemicals

Enzymes for Molecular Biology 7

Chemicals for Molecular Biology 11

Enzymes for Molecular Biology

- T4 DNA Ligase..... 8-9

T 4 DNA Ligase

Anwendung:

Klonierung von Restriktionsverdau-Fragmenten. Verbindung von Linker und Adapter zu 'blunt-ended' DNA, Gen-(fragment) Synthese.

Beschreibung:

T4 DNA Ligase katalysiert die Formation der Phosphodiesterbindungen zwischen den 5'-Phosphat- und 3'-Hydroxylenden in der Duplex DNA/RNA. Das Enzym verbindet die 'blunt'-Enden und die kohäsiven Enden, repariert Einzelstrangbrüche in der Duplex DNA, RNA oder DNA/RNA-Hybriden. T4 DNA Ligase wurde aus einem E. coli Klon gewonnen, der ein Plasmid enthält, das die Synthese der T4 DNA Ligase steuert.

Konzentration: 100 - 200 u/μl

Quelle:

Isoliert aus E. coli-Stamm, der das klonierte DNA-Ligase-Gen aus dem Bakteriophagen T4 führt.

Einheitendefinition:

Eine Einheit ist definiert als die Menge Enzym, die benötigt wird, um eine 50%ige Ligation eines Hind III-Fragmentes einer Lambda DNA in 30 Minuten bei 16°C bei einer Konzentration von 5'-Enden von 0,12 μM (300 μg/ml) zu erhalten. Eine kohäsive End-Ligationseinheit entspricht 0,015 Weiss Einheiten. Eine Weiss-Einheit entspricht 67 kohäsiven End-Ligationseinheiten. Jede Charge einer T4 DNA Ligase wird auf die Abwesenheit von Endonukleasen/Exonukleasen und in einem blau/weiß Klonierungsansatz getestet.

Lagerpuffer:

50 mM KCl, 10 mM Tris -HCl (pH 7,4), 0,1 mM EDTA, 1 mM DTT, 50 % Glycerin.

Reaktionspuffer (10x):

500 mM Tris HCl (pH 7,8), 100 mM MgCl₂, 100 mM DTT und 10 mM ATP

Kat.-Nr.	Beschreibung	Menge
402-002	T 4 DNA Ligase (weiss units)	2000 units
402-010	T 4 DNA Ligase (weiss units)	10.000 units

T 4 DNA Ligase

Applications:

- Cloning of restriction fragments
- joining linkers and adapters to blunt-ended DNA
- gene-(fragments) synthesis.

Description:

T4 DNA Ligase catalyzes the formation of a phosphodiester bonds between 5' phosphate and 3'-hydroxyl-termini in duplex DNA/RNA. This enzyme can join blunt end and cohesive end termini, repairs single stranded nicks in duplex DNA, RNA, or DNA/RNA hybrids.

Concentration: 100 - 200 u/μl

Source:

Isolated from E.coli strain that carries the cloned DNA ligase gene from bacteriophage T4

Unit definition:

One unit is defined as the amount of enzyme required to give 50% ligation of Hind III fragments of lambda DNA in 30 minutes at 16°C at 5' termini concentration of 0.12 μM (300 μg/ml). One Cohesive End Ligation Unit equals 0.015 Weiss units. One Weiss unit equals 67 Cohesive End Ligation Units.

Storage buffer:

50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH 7.4), 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 50% glycerol.

Reaction buffer (10X):

500 mM Tris HCL (pH 7,8), 100 mM MgCl₂, 100 mM DTT, 10 mM ATP.

Cat.-no	Description	Amount
402-002	T 4 DNA Ligase (weiss units)	2000 units
402-010	T 4 DNA Ligase (weiss units)	10.000 units

Chemicals for Molecular Biology

- Agarose..... 12-13
- Proteinase K 14-15
- IPTG..... 16-17
- Bovine Serum Albumin - BSA..... 18-19
- UDG (Uracil-DNA Glycosylase)..... 20-21

Agarose für die Gelelektrophorese

Features:

- Frei von RNasen, DNasen und anderen Enzyminhibitoren
- Empfohlen für die Molekularbiologie
- hohe Chargenkonstanz und keine messbare DNA Bindung
- hohe optische Transparenz, leicht zu lösen ohne zu schäumen
- sehr gute Trenn- und Bandenschärfe
- Universal einsetzbar für die Gelelektrophorese
- feste Gele auch bei niedrigen Konzentrationen

Anwendung:

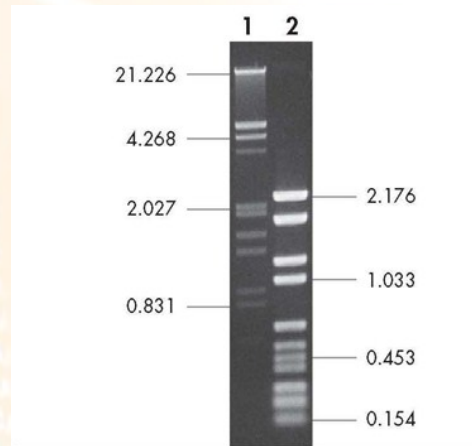
- DNA: ca. 0.05 kbp – 50 kbp
- RNA: ca. 0.30 kb – 20 kb

Spezifikation:

- Geliertemperatur: $\leq 37\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Schmelztemperatur: $\leq 90\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Elektroendosmose: ≤ 0.140
- Gelstärke (1.5 %): $\geq 2300\text{ g / cm}^2$
- Sulfatgehalt: $\leq 0.10\text{ %}$
- Wassergehalt: $\leq 10.0\text{ %}$

Qualitätssicherung:

- Frei von DNasen und RNasen
- Keine DNA-Bindung
- Hohe Chargen-Konsistenz



1% 1x TAE Universal Agarose gel showing separation of λ -DNA digested with *EcoR I/Hind III* (1) and a mixture from pBR328-DNA digested with *Bgl I* and *Hinf I* (2). Data in kbp.

Kat.-Nr.	Beschreibung	Menge
604-001	Agarose universal für die Gelelektrophorese	100 g
604-005	Agarose universal für die Gelelektrophorese	500 g

Agarose for gel-electrophoresis

Features:

- High separation properties and sharp band patterns
- Easy solubility without foaming
- Excellent optical transparency

Applications:

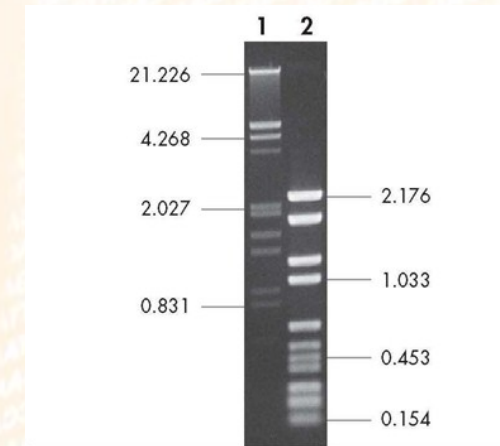
- DNA: approx. 0.05 kbp – 50 kbp
- RNA: approx. 0.30 kb – 20 kb

Specifications :

- Gelling temperature: $\leq 37\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Melting temperature: $\leq 90\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Electroendosmosis: ≤ 0.140
- Gel strength (1.5 %): $\geq 2300\text{ g / cm}^2$
- Sulphate content: $\leq 0.10\text{ %}$
- Water content: $\leq 10.0\text{ %}$

Quality Assurance:

- Certified free of DNases and RNases
- No DNA binding
- High lot-to-lot consistency



1% 1x TAE Universal Agarose gel showing separation of λ -DNA digested with *EcoR I/Hind III* (1) and a mixture from pBR328-DNA digested with *Bgl I* and *Hinf I* (2). Data in kbp.

Cat.-no	Description	Amount
604-001	Agarose universal for gel-electrophoresis	100 g
604-005	Agarose universal for gel-electrophoresis	500 g

Proteinase K

Features:

Proteinase K (isoliert aus *Tritirachium album*) ist eine hochaktive und stabile Protease mit sehr geringer Schnittspezifität. Das Enzym gehört zur Gruppe der subtilisinverwandten Serinproteasen und wird deshalb durch PMSF stark inhibiert.

Beschreibung:

Proteinase K ist eine Proteinase aus dem Schlauchpilz *Tritirachium album*, die zur Familie der Subtilisin-ähnlichen Serinproteasen gehört. Das Enzym greift Peptidbindungen sowohl an den Enden (Exopeptidase), als auch im Inneren (Endopeptidase) der Proteine an.

Aktivität: > 30 Units/mg Protein (Hämoglobin, pH 7.5, 37°C)

Einheitenbestimmung:

Ein Unit ist die Enzymaktivität, die bei 37°C in 1 min ebenso viele folin-positive Aminosäuren und Peptide aus Hämoglobin freisetzt wie 1 µmol Tyrosin.

Anwendung:

In Gegenwart von 0.5 – 1 % SDS inaktiviert Proteinase K die DNasen und RNasen aus kultivierten Eukaryotenzellen und Mikroorganismen. Proteinase K wird für den Abbau von Proteinen in Zelllysaten und zur Freisetzung von Nukleinsäuren verwendet.

Qualitätstests:

- Chromatographisch gereinigt und lyophilisiert
- RNase: nicht nachweisbar
- DNase: nicht nachweisbar
- Exonuklease: nicht nachweisbar

Kat.-Nr.	Beschreibung	Menge
405-002	Proteinase K	200 mg
405-010	Proteinase K	1000 mg

Proteinase K

Features:

Proteinase K is a highly active and stable protease with low cutting specificity. The enzyme belongs to the group of subtilisin-related serine proteases and is strongly inhibited by PMSF.

Description:

Proteinase K is a serine protease that exhibits a very broad cleavage specificity. The Protein with a molecular weight 28.900 kDa cleaves peptide bonds adjacent to the carboxylic group of aliphatic and aromatic amino acids. Proteinase K is not inactivated by chelating reagents such as EDTA or detergents such as SDS and is active over a wide range of pH (4-12.5).

Activity: > 30 units/mg protein (hemoglobin, pH 7.5, 37°C)

Unit definition:

One unit is the amount of enzyme which releases at 37°C in 1 min as many folin-positive amino acids and peptides from hemoglobin as 1 µmol of tyrosine.

Usage:

In presence of 0.5 – 1 % SDS Proteinase K inactivates DNases and RNases in eukaryotic and microbiological cell cultures. The use of Proteinase K during lysis of the cells allows the isolation of intact highly-molecular nucleic acids.

Quality:

- purified by chromatography and lyophilized
- RNases: not detectable
- DNases: not detectable
- Exonucleases: not detectable

Cat.-no	Description	Amount
405-002	Proteinase K	200 mg
405-010	Proteinase K	1000 mg

Anwendung:

- Für die blau/weiß-Selektion über α -Komplementation
- Induziert Expression von Genen unter Kontrolle des lac-Operons

Beschreibung:

Das Lactose-Operon von E. coli ist unter negativer Kontrolle des Lac-Repressorproteins, das spezifisch an den Operator im E. coli-Genom bindet. Der am häufigsten verwendete synthetische Induktor des Lac-Operons ist IPTG. Es bindet an den Repressor und verhindert dadurch dessen Bindung an die DNA. Die Angaben über die eingesetzte IPTG-Menge schwanken z.B. von 1 mM IPTG in LB-Medium bis 0,1 mM. Als Stammlösung kann z.B. eine 100 mM oder 500 mM wässrige Lösung verwendet werden, die nach Sterilfiltration bei -20°C gelagert wird.

Spezifikation:

- Reinheit: mind. 99 %
- Schmelzpunkt: 110 - 112 °C
- Löslichkeit: in H₂O und EtOH
- Dioxan: nicht nachweisbar

Kat.-Nr.	Beschreibung	Menge
406-010	IPTG	1 g
406-011	IPTG	5 g
406-012	IPTG	5x5 g

Applications:

- Blue/white colony screening
- Expression of cloned genes that are under control of the lac promoter

Description:

IPTG (isopropyl-beta-D-thiogalactopyranoside) is a highly stable synthetic analogue of lactose. It inactivates the lac repressor and induces synthesis of beta-galactosidase, an enzyme that promotes lactose utilization. The IPTG is used to induce the expression of cloned genes which are under control of the lac operon. It is used in conjunction with X-Gal to determine the lac phenotype in blue/white colony screening.

Quality:

- Dioxane-free.
- Greater than 99.8 % purity confirmed by HPLC
- Functionally tested in blue/white colony screening

Usage:

The final concentration differs from author to author (0.1 mM (2) - 1 mM (1) IPTG in LB-medium). For preparing a stock solution dissolve 100 mM or 500 mM IPTG in water or buffer, sterilize by filtration through a 0.22 μ m filter and store at -20°C.

Cat.-no	Description	Amount
406-010	IPTG	1 g
406-011	IPTG	5 g
406-012	IPTG	5x5 g

BSA (Rinderserumalbumin)

Beschreibung:

BSA wird oft mit Restriktionsenzymen geliefert. Es verhindert die Anlagerung des Enzyms an den Wänden der Reaktionsgefäße. BSA stabilisiert auch Proteine während der Inkubation

Konzentration: 10 mg / ml

Lagerpuffer:

- 20 mM KPO₄
- 50 mM NaCl
- 0.1 mM EDTA
- 5% Glycerin
- pH 7.0 (25°C)

Hinweis:

Die Präparation mit BSA ist als Standard für Quantifizierung oder Größenbestimmung nicht geeignet.

Verdünnung: 1:100

Kat.-Nr.	Beschreibung	Menge
209-001	Bovine Serum Albumin (BSA)	1,5 ml
209-005	Bovine Serum Albumin (BSA)	4x1,5 ml

BSA (Bovine Serum Albumin)

Description:

Bovine Serum Albumin (BSA) is supplied with some restriction enzymes to prevent adhesion of the enzyme to reaction tubes and pipette surfaces. BSA also stabilizes some proteins during incubation. The source of purified BSA is a molecular biology grade, protease free, fraction V starting material. This material is then processed to remove nucleases.

Concentration: 10 mg/ml

Storage Buffer:

- 20 mM KPO₄
- 50 mM NaCl
- 0.1 mM EDTA
- 5% Glycerol
- pH 7.0 (25°C)

Note:

It is do not recommend using this preparation of BSA as a standard for quantitation purposes or size determination.

The BSA should be diluted 1:100 for standard reactions. At this level the buffer from the BSA have a very small effect, only.

Cat.-no	Description	Amount
209-001	Bovine Serum Albumin (BSA)	1,5 ml
209-005	Bovine Serum Albumin (BSA)	4x1,5 ml

UDG (Uracil-DNA Glycosylase)

Anwendung:

Inkubation von 1 unit Uracil-DNA-Glycosylase mit bis zu 0.1 µg uracilhaltiger DNA für 10 Minuten bei 37 °C. Hitzeinaktivierung des Enzyms für 10 Minuten bei 95 °C.

Beschreibung:

Durch die Verwendung von dUTP anstelle von dTTP werden die entstandenen DNA-Fragmente für eine Hydrolyse durch UDG sensibilisiert. Eine weitere, PCR-Amplifikationen vorgeschaltete, Inkubation der Ansätze mit UDG und eine zusätzliche Hitzedenaturierung zerstören die in früheren PCR-Reaktionen entstandenen, uracilhaltigen PCR-Fragmente, die in den neuen Reaktionsansatz verschleppt worden sein könnten.

Konzentration: 20 - 40 u/µl

Einheitendefinition:

Ein Unit entspricht der Enzymmenge, die bei 37 °C in 30 Minuten die Freisetzung von 60 pmol [3H]-Uracil aus 200 µg uracilhaltiger Doppelstrang-DNA katalysiert.

Lagerpuffer:

20 mM Tris-HCl (pH 8.0); 50 mM NaCl; 1 mM EDTA; 7 mM 2-mercaptoethanol; 50% glycerol

Reaktionspuffer 10 X:

200 mM Tris-HCl (pH 8.0 bei 25°C), 10 mM EDTA, 10 mM DTT. Inkubation von 1X Puffer bei 37°C.

Hinweis:

Bei Temperaturen unter 55 °C wird die Aktivität der Uracil-DNA-Glycosylase teilweise wiederhergestellt.

Kat.-Nr.	Beschreibung	Menge
111-005	Uracil-DNA Glycosylase (UDG)	200 units
111-025	Uracil-DNA Glycosylase (UDG)	1000 units

UDG (Uracil-DNA Glycosylase)

Applications:

- site-directed mutagenesis
- as a probe for protein-DNA interaction studies
- Glycosylase mediated single nucleotide polymorphism detection (GMPD)
- SNP genotyping
- Rapid and efficient cloning of PCR products
- Elimination carry-over contamination in PCR

Description:

The Uracil-DNA Glycosylase (UDG, UNG) catalyzes the hydrolysis of the N-glycosylic bond between the uracil and sugar, leaving an apyrimidinic site in uracil-containing single or double-stranded DNA. Shows no activity on RNA. Molecular weight: 25.6 kDa monomer.

Concentration: 20 - 40 u/µl

Unit definition:

One unit is defined as the amount of enzyme that catalyzes the release of 60 pmol of uracil per minute from double-stranded, uracil-containing DNA. Activity is measured by release of [3H]-uracil in a 50 µl reaction containing 0,2 µg DNA (104 – 105 cpm/µg) in 30 minutes at 37°C.

Storage Buffer:

20 mM Tris-HCl (pH 8.0); 50 mM NaCl; 1 mM EDTA; 7 mM 2-mercaptoethanol; 50% glycerol

Reaction Buffer 10X

200 mM Tris-HCl (pH 8.0 at 25°C), 10 mM EDTA, 10 mM DTT. Incubation of 1X buffer at 37°C.

Note:

At temperatures below 55 °C, the activity of uracil-DNA glycosylase is partially restored.

Cat.-no	Description	Amount
111-005	Uracil-DNA Glycosylase (UDG)	200 units
111-025	Uracil-DNA Glycosylase (UDG)	1000 units



● GeneON ●

