

## Kit MBLong HOT DNA Polimerasa

No.Catálogo: MBL080 (250 U, 5 U/μL)  
MBL081 (500 U, 5 U/μL)

Versión: 07/2006

**Descripción del producto:** Kit diseñado para obtener fragmentos largos de amplificación unidos a una alta especificidad. La MBLong HOT DNA polimerasa es una mezcla de la MBL HOT Start polimerasa con la MBL Pwo polimerasa en un buffer optimizado que permite la amplificación de hasta 8-10 kb a partir de DNA genómico o de 14-20 kb a partir de DNA proveniente de lisado del fago lambda. La MBL HOT Start polimerasa se obtiene de la combinación de la MBL-Taq polimerasa con un anticuerpo que bloquea la actividad polimerasa de la enzima antes del inicio de los ciclos de amplificación. El kit se suministra con una mezcla de dNTPs ultrapuros a 2 mM cada uno.

**Definición de Unidad:** Una unidad se define como la cantidad de enzima que se requiere para convertir 10 nmoles de dNTPs en 30 minutos a 74°C a un polímero insoluble en ácidos. bajo las condiciones de ensayo siguientes: 25mM Tris-HCl pH9,0 a 25°C, 50mM KCl, 2mM MgCl<sub>2</sub>, 0,1mg/mL de gelatina, 200 μM de dATP, dGTP, dTTP, 100μM[α<sup>32</sup>-P]dCTP (0,05μCi/nmol) y 12,5

μg de ADN activado de esperma de salmón.

**Actividades asociadas:** La MBLong HOT DNA polimerasa tiene actividad DNA polimerasa 5'-3', exonucleasa 5'-3' (asociada a la polimerización) y actividad exonucleasa 3'-5' (actividad correctora). Permite la clonación T/A.

**Aplicaciones:** Recomendada para PCRs largas que requieran alta especificidad y fidelidad de copia. La enzima genera entre un 70-80% de los fragmentos con A añadida en los extremos lo que permite la clonación en un T-vector.

**Controles de calidad:** Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Enzimas purificadas, libres de endonucleasas y exonucleasas. SDS-PAGE >98% pura.

**Tampón de reacción:** 10x Buffer E (libre de Mg<sup>2+</sup>)

**Recomendamos almacenar el tampón de reacción y el MgCl<sub>2</sub> 25mM a -20°C.**

**Envío y almacenamiento del producto:** El envío del producto a temperatura ambiente no afecta su actividad, sin embargo el almacenaje de rutina a -20°C es altamente recomendado.

### Condiciones de uso recomendadas

	<u>Concentración final</u>
5 μL 10x Buffer sin Mg <sup>2+</sup>	1x
5 μL MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	2,5 mM
5 μL dNTPs (2 mM cada uno=8 mM total)	200 μM cada uno
1 μL primer 1 (15 pmol/μL=15 nmol/mL=15 μmol/L=15 μM)	0,75 pmol/μL
1 μL primer 2 (15 pmol/μL=15 nmol/mL=15 μmol/L=15 μM)	0,75 pmol/μL
x μL molde (plásmidos: 30-75ng; gDNA: 100-500ng)	
1 μL MBL-Taq DNA polimerasa (5 U/μL)	5 U
H <sub>2</sub> O hasta 50 μL	

**Programar:** 94°C 5:00, 30x (94°C 0:35, Tm 0:35, 68°C 1'/kb), 68°C 7:00, 4°C ∞