

MBL-HOT Start DNA Polimerasa

No.Catálogo: MBL005 (500 U, 5 U/μL)

MBL092 (500 U, 5 U/μL, incluye dNTPs)

Versión: 07/2006

Descripción del producto: Combinación de la MBL-Taq polimerasa con un anticuerpo que bloquea la actividad polimerasa antes del inicio de los ciclos de amplificación, lo que evita la extensión proveniente de dímeros de oligonucleótidos y/o de oligonucleótidos anillados inespecíficamente durante la preparación de la PCR.

A diferencia de otros métodos Hot-Start, los anticuerpos se inactivan rápidamente al elevar la temperatura y no requieren los 15 minutos a 95-97°C que requieren otras polimerasas HOT Start. Ello favorece la rapidez y sencillez de su uso.

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 MgCl₂, 0,1mg/mL de gelatina, 200 μM de dATP, dGTP, dTTP, 100μM[α³²-P]dCTP (0,05μCi/nmol) y 12,5 μg de ADN activado de esperma de salmón.

Actividades asociadas: La enzima tiene actividad exonucleasa 5'-3' asociada a la

polimerización pero no tiene actividad exonucleasa 3'-5' (actividad correctora). Permite la clonación T/A.

Aplicaciones: Recomendada para PCR cuantitativa y PCRs con alta especificidad. Genera fragmentos con A añadida en los extremos lo que permite la clonación en un T-vector. Se recomienda su uso para aquellas amplificaciones sobre moldes con cantidades limitadas ya que es capaz de amplificar sobre 15 femtogramos de DNA, usando capilares. Empleada en amplificaciones con sondas Taqman.

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

Recomendamos almacenar el tampón de reacción y el MgCl₂ 25mM a -20°C.

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

Condiciones de uso recomendadas

	<u>Concentración final</u>
2 μL 10x PCR Buffer sin Mg ²⁺	1x
2 μL MgCl ₂ (25 mM)	2,5 mM
2 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)	
0,2 μL MBL-HOT Start DNA polimerasa (5 U/μL)	1 U
H ₂ O hasta 20 μL	

Programar: 94°C 5:00, 40x (94°C 0:35, Tm 0:35, 72°C 1'/kb), 72°C 7:00, 4°C ∞.