

Kit MBLong PCR

No.Catálogo: MBL077 (250 U, 5 U/μL)
MBL078 (500 U, 5 U/μL)

Versión: 07/2006

Descripción del producto: Kit de PCR para obtener productos de PCR de gran tamaño con alta fidelidad de copia. Mezcla de la MBL-Taq polimerasa con la MBL-Pwo DNA polimerasa en un buffer optimizado que permite la amplificación con alta fidelidad 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 enzima genera entre un 70-80% de los fragmentos con A añadida en los extremos lo que permite la clonación en un T-vector. La enzima tiene mayor sensibilidad que la MBL-Taq polimerasa lo que la hace recomendable cuando el material de partida es limitado. 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 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 MBLong DNA polimerasa tiene actividad DNA polimerasa 5'-3' y exonucleasa 5'-3' asociada a la polimerización, actividad exonucleasa 3'-5' (actividad correctora).

Aplicaciones: Recomendada para PCR's 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.

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

	Concentración final
5 μL 10x PCR Buffer sin Mg ²⁺	1x
5 μL MgCl ₂ (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 MBLong DNA polimerasa (5 U/μL)	5 U
H ₂ O hasta 50 μL	

Programar: 94°C 5:00, 25-30x (94°C 0:35, Tm 0:35, 68°C 1'/kb), 68°C 7:00, 4°C ∞