

MBL-Red Taq polimerasa 2,5x

No.Catálogo: MBL152 (100 reacciones)

Versión: 07/2006

Descripción del producto: Kit de PCR desarrollado para el trabajo con un gran número de muestras por la facilidad en la preparación de las mismas y su posterior aplicación en un gel. El kit contiene una mezcla de reacción 2,5X a la que solo debe añadirle, sus primers y su DNA.

Composición del kit: El kit contiene un único tubo con 850 μ L de MBL-Taq polimerasa 2,5X. Esta mezcla de reacción 2,5X contiene MBL-Taq polimerasa, dNTPs ultrapuros, $MgCl_2$, y un buffer de carga que le permitirá cargar directamente la PCR en un gel de agarosa. Este kit no solo reducirá el tiempo de preparar una PCR sino que reduce la manipulación de distintos reactivos, disminuyendo la posibilidad de error y aumentando la reproducibilidad de sus experimentos. En un gel al 2% el frente migra con la banda de 500 pb.

Fuente: La MBL Taq polimerasa está purificada a partir de una cepa de *E. coli* portadora de un plásmido hiperproductor de una polimerasa aislada de la bacteria *Thermus sp.*

Condiciones de ensayo: 25mM Tris-HCl pH9,0 a 25°C, 50mM KCl, 2mM $MgCl_2$, 0,1mg/mL de gelatina, 200 μ M de dATP, dGTP, dTTP, 100 μ M [α^{32} -P] dCTP (0,05

μ Ci/nmol) y 12,5 μ g de DNA activado de esperma de salmón.

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.

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 y controles de calidad: Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Enzima purificada libre de endonucleasas y exonucleasas. SDS-PAGE-banda de 95kD, >98% pura. La actividad y estabilidad han sido ensayadas en 35 ciclos de hasta 96°C. La tasa de error de la enzima por nucleótido y por ciclo es de aproximadamente 1-2 errores/12000 pares de base. La vida media estimada de la enzima a 96°C es de 1,5 horas.

Almacenar el kit 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 |
|--|---------------------|
| 8 μ L MBL-Red Taq mix 2,5x * | 1x |
| 1 μ L primer 1 (15 pmol/ μ L=15 nmol/mL=15 μ mol/L=15 μ M) | 0,75 pmol/ μ L |
| 1 μ L primer 2 (15 pmol/ μ L=15 nmol/mL=15 μ mol/L=15 μ M) | 0,75 pmol/ μ L |
| x μ L molde (plásmidos: 30-75ng; gDNA: 100-500ng) | |
| H ₂ O hasta 20 μ L | |

Programar: 94°C 5:00, 25-30x (94°C 0:35, Tm 0:35, 72°C 1'/kb), 72°C 7:00, 4°C ∞

* Una vez descongelada la mix 2,5X es importante mezclarla bien mediante pipeteo para homogeneizar sus componentes y mantenerla en hielo para que la enzima no pierda su actividad.