

MBL-Taq DNA Polimerasa

No.Catálogo: MBL002 (500 U, 5 U/ μ L)
MBL003 (1000 U, 5 U/ μ L)
MBL156 (500 U, 1 U/ μ L)

Versión: 07/2006

Fuente: Purificada por métodos no cromatográficos 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 MgCl₂, 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.

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 μ L 10x PCR Buffer sin Mg ²⁺	1x
1,6-2 μ L MgCl ₂ (25 mM)	2-2,5 mM
2 μ L dNTPs (2 mM cada uno=8 mM total) ^a	200 μ M cada uno
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)	
0,2 μ L MBL-Taq DNA polimerasa (5 U/ μ L) ^b	1 U
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 ∞

^a La concentración final de dNTPs influye de una forma muy importante en la PCR, ya que los dNTPs se unen al ión magnesio y reducen su concentración efectiva en la reacción. Experimentos previos han demostrado que concentraciones 4 veces superiores a las recomendadas pueden anular casi por completo la amplificación.

^b Dominion-MBL dispone de MBL-Taq DNA polimerasa 1U/ μ L (N°Cat. MBL156). Esta versión de la polimerasa facilita coger exactamente 1U de la misma ya que su volumen de 1 μ L es más fiable que 0,2 μ L, disminuyendo así los errores al pipetear.