

Datenblatt

PCR-Mastermix (Ready to load) 1000 µL

(Nur für Forschung und In-vitro-Anwendungen)

Katalog-Nr.:	CH1025,1000																		
Chargen-Nr.:	25FMG0010																		
Mindesthaltbarkeit:	04/2008																		
Aussehen:	klare Flüssigkeit																		
Farbe:	grün																		
Beschreibung:	PCR-Mastermix (Ready to load) ist eine fertig gemischte Lösung für die PCR, bereit zum anschließenden direkten Auftrag auf ein Agarosegel. Er enthält alle benötigten Reagenzien bis auf Template-DNA, Primer und Wasser.																		
Versand:	RT																		
Lagerung:	- 20 °C (Lagerung bei RT bis 1 Monat ohne Aktivitätsverlust möglich, bei 2 °C bis 8 °C für bis zu 6 Monate)																		
Zusammensetzung:	<ul style="list-style-type: none">• Taq-DNA-Polymerase• 5x Reaktionspuffer B (400 mM Tris-HCl [pH 9,4 – 9,5 bei 25 °C], 100 mM (NH₄)₂SO₄, 0,1 % w/v Tween 20)• 12,5 mM MgCl₂ (= 2,5 mM in 1x Lösung)• 1 mM von jeweils dATP, dGTP, dCCT und dTTP (= 200 µM je dNTP in 1x Lösung)• Blauer und gelber Farbstoff sowie weitere Komponenten zum direkten Beladen auf ein Agarosegel																		
Quelle:	Ursprungsform ist die thermostabile DNA-Polymerase, die aus dem thermophilen Bakterium <i>Thermus aquaticus</i> isoliert wurde. Das vorliegende Enzym ist rekombinant in <i>E. coli</i> exprimiert.																		
Analysebedingungen:	25 mM Tris-HCl (pH 9,0 bei 25 °C), 50 mM KCl, 2 mM MgCl ₂ , 0,1 mg/ml Gelatine, 200 µM von je dATP, dGTP, dTTP, 100 µM [α - ³² P]dCTP (0,05 µCi/nmol), 12,5 µg aktivierte Lachssperma-DNA																		
Unit-Definition:	Ein Unit ist die Enzymmenge, die benötigt wird, um 10 nmol dNTP in 30 min bei 74 °C in eine säureunlösliche Form umzuwandeln.																		
Lager- und Verdünnungspuffer:	50 % Glycerol (v/v), 20 mM Tris-HCl (pH 8,7 bei 25 °C), 100 mM KCl, 0,1 mM EDTA und Stabilisatoren																		
Enzymaktivitäten:	Taq-DNA-Polymerase ist eine hochprozessive 5' → 3'-DNA-Polymerase mit 5' → 3'-Exonukleaseaktivität. Eine 3' → 5'-Exonukleaseaktivität fehlt vollständig. Zusätzlich fügt das Enzym einzelne Nucleotide (fast ausschließlich Adenosin) an die 3'-Enden der DNAs an, so daß eine TA-Klonierung ohne weitere Modifizierungen möglich ist.																		
Anwendungs- und Qualitätskontrolle:	Primer-Extensionsreaktionen: Das Enzym ist frei von Nicking- und Primeraktivitäten sowie von Exonukleasen und unspezifischen Endonukleasen. SDS/PAGE: 95-kD- Bande, Reinheit: >98%. Aktivität und Stabilität wurden mittels PCR getestet. Die Fehlerrate pro Nucleotid pro Zyklus beträgt ~ 8,3 x 10 ⁻⁵ , die Genauigkeit ~ 1,2 x 10 ⁴ . Die Halbwertszeit beläuft sich bei 95 °C auf 90 min.																		
Protokoll:	Die einzelnen Komponenten sollten wie folgt pipettiert werden (hier für 50 µL Endvolumen): <table border="1"><thead><tr><th>Komponente</th><th>Volumen</th><th>Endkonzentration</th></tr></thead><tbody><tr><td>PCR-Mastermix</td><td>10 µL</td><td>1x</td></tr><tr><td>Primer 1</td><td>x µL</td><td>0,4 µM</td></tr><tr><td>Primer 2</td><td>x µL</td><td>0,4 µM</td></tr><tr><td>Template-DNA</td><td>x µL</td><td>5 – 100 ng</td></tr><tr><td>Wasser</td><td colspan="2">ad 50 µL auffüllen</td></tr></tbody></table>	Komponente	Volumen	Endkonzentration	PCR-Mastermix	10 µL	1x	Primer 1	x µL	0,4 µM	Primer 2	x µL	0,4 µM	Template-DNA	x µL	5 – 100 ng	Wasser	ad 50 µL auffüllen	
Komponente	Volumen	Endkonzentration																	
PCR-Mastermix	10 µL	1x																	
Primer 1	x µL	0,4 µM																	
Primer 2	x µL	0,4 µM																	
Template-DNA	x µL	5 – 100 ng																	
Wasser	ad 50 µL auffüllen																		
Hinweise zum Gebrauch:	PCR-Mastermix (Ready to load) ist optimiert für PCR-Reaktionen mit nachfolgender Visualisierung der Produkte durch Agarose-Gelelektrophorese. Der blaue Farbstoff wandert in einem 1 %igen Agarosegel mit der gleichen Geschwindigkeit wie 3,5 bis 4,5 kb große DNA-Fragmente, der gelbe Farbstoff in etwa wie die Primer (< 35 – 45 bp). PCR-Mastermix (Ready to load) enthält Tween 20. Falls ein detergensfreies Puffersystem benötigt wird, kontaktieren Sie uns bitte. PCR-Mastermix (Ready to load) wird nicht empfohlen für Anwendungen mit nachfolgenden spektrofotometrischen Messungen (Absorptions- oder Fluoreszenzmessungen), da die beiden Farbstoffe mit diesen Anwendungen interferieren können.																		
Sicherheitshinweis:	Dieses Produkt sollte nur von Personen verwendet werden, die Routine in Laboranwendungen haben. Es sollte laborübliche Schutzkleidung wie Kittel, Handschuhe und Schutzbrillen getragen werden. Bei Kontakt mit Haut und Augen sollten die betroffenen Stellen umgehend mit Wasser gewaschen bzw. ausgespült werden.																		
Anwendungshinweis:	In bestimmten Ländern sind einige Anwendungen, für die dieses Produkt eingesetzt werden kann, patentrechtlich geschützt. Da durch den Kauf keine Lizenzen erworben werden, kann abhängig vom Anwendungsland und der Anwendung der Erwerb entsprechender Lizenzrechte erforderlich sein.																		