

## Datenblatt

### Taq-DNA-Polymerase 500 U

(Kat.-Nr. CH1023,0500)

(Nur für Forschung und In-vitro-Anwendungen)

---

Mindestens haltbar bis:	00/00	
Aussehen:	klare Flüssigkeit	
Farbe:	transparent	
Lieferumfang:	100 µl Taq-DNA-Polymerase (500 U) Charge 000000	rot
(farbige Deckelcodierung)	1.500 µl Puffer B (10x) Charge 000000	blau
	1.500 µl Puffer BD (10x) Charge 000000	grün
	1.500 µl MgCl <sub>2</sub> -Lösung (25 mM) Charge 000000	grau
	200 µl Lösung S (10x) Charge 000000	gelb

---

**Menge:** 500 Units in 100 µL

**Konzentration:** 5 Units/µl

**Herkunft:** Ursprungsform ist die thermostabile Polymerase, die aus *Thermus aquaticus* isoliert wurde. Das vorliegende Enzym ist rekombinant in *E. coli* exprimiert.

**Analysebedingungen:** 25 mM Tris•HCl pH 9.0 bei 25°C, 50 mM KCl, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1 mg/ml Gelatine, 200 µM von jeweils dATP, dGTP, dTTP, 100 µM [ $\alpha$ 32-P]dCTP (0,05 µCi/nmol), 12,5 µg aktivierte Lachssperma-DNA.

**Unit:** Eine 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' Exonuklease-Aktivität. Eine 3'→5' Exonuklease-Aktivität fehlt vollständig. Zusätzlich fügt das Enzym einzelne Nukleotide (fast ausschließlich Adenosin) an die 3'-Enden der DNAs an, so daß eine TA-Klonierung ohne weitere Modifizierungen möglich ist.

**Anwendungs- und Qualitätskontrolle:** Primer-Extensions-Reaktionen: Das Enzym ist frei von Nicking- und Primer-Aktivitäten sowie von Exonukleasen und unspezifischen Endonukleasen. SDS/PAGE: 95-kD-Bande, Reinheit: >98 %. Aktivität und Stabilität wurden mittels PCR getestet. Die Fehlerrate pro Nukleotid und Zyklus beträgt  $\sim 8,3 \times 10^{-5}$ , die Genauigkeit  $\sim 1,2 \times 10^{-4}$ . Die Halbwertszeit bei 95 °C liegt bei 90 min.

**Reaktionspuffer:**

- 10x Reaktionspuffer B (frei von Mg<sup>2+</sup>): 800 mM Tris•HCl pH 9,4 – 9,5 bei 25 °C, 200 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,2 % w/v Tween-20
- 10x Reaktionspuffer BD (frei von Mg<sup>2+</sup> und Detergenzien): 800 mM Tris•HCl pH 9,4 – 9,5 bei 25 °C, 200 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

**Reaktionspuffer und 25 mM MgCl<sub>2</sub> routinemäßig bei - 20 °C lagern!**

**Additiv:** Lösung S (10x) eignet sich zur Verbesserung der Amplifikationsergebnisse bei schwierigen DNA-Templates (z. B. GC-reiche DNA-Templates). Die Lösung sollte nur in einer definierten Konzentration (1x, 2x oder 3x) eingesetzt werden.

**Lösung S ersetzt nicht den Reaktionspuffer und sollte nur dann als weiterer Zusatz verwendet werden, wenn unspezifische Amplifikate auftreten.**

**Protokoll:** Die einzelnen Komponenten sollten in folgender Reihenfolge pipettiert werden: Reaktionspuffer B oder BD (Endkonzentration 1x), H<sub>2</sub>O, MgCl<sub>2</sub> (Endkonzentration 2,0 – 2,5 mM [2,5 mM empfohlen]), dNTPs (200 µM), DNA-Template (5 ng - 100 ng/100 µl Reaktionsvolumen), Primer (30 – 100 pmol/100 µl), Polymerase (2 - 5 U/100 µl Reaktionsvolumen, für schwierige Templates bis zu 10 U/100 µL Reaktionsvolumen).

**Versand:** bei Umgebungstemperatur

**Lagerung:** bei -20 °C

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.