

# peqGOLD 'Hot' *Taq*-DNA-Polymerase\*

Lot-Nr. ....

Bestell-Nr.	01-8110	100 Units
	01-8120	250 Units
	01-8130	4 x 250 Units

Inhalt	'Hot' <i>Taq</i> -DNA-Polymerase	
	10x Reaktionspuffer Y (roter Deckel)	Lot-Nr. ....
	10x Reaktionspuffer S (blauer Deckel)	Lot-Nr. ....
	5x Enhancer Solution P (grüner Deckel)	Lot-Nr. ....
	Verdünnungspuffer	Lot-Nr. ....
	25 mM Magnesiumchlorid	Lot-Nr. ....

**Konzentration** 5 units/ $\mu$ l gelöst in 20 mM Tris-HCl, 100 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0.5 % Tween-20, 0.5 % Nonidet P-40 und 50 % (v/v) Glycerol (pH 8.0, 25 °C).

**Unitdefinition** Ein Unit ist die Enzymmenge, die benötigt wird, um 10 nmol dNTP in 30 min bei 74 °C in säureunlösliche Substanz zu überführen.

## Qualitätskontrolle

**Endonukleasen** Eine Inkubation von 20 Units des Enzyms in 50  $\mu$ l 1x Reaktionspuffer mit 1  $\mu$ g Lambda DNA für 16 h bei 65 °C ergibt keinen nachweisbaren DNA-Abbau.

Eine Inkubation von 20 Units des Enzyms in 50  $\mu$ l 1x Reaktionspuffer mit 1  $\mu$ g Lambda *Eco*R I/*Hind* III-Fragmenten für 16 h bei 65 °C führt zu keinem nachweisbaren Abbau der DNA.

Eine Inkubation von 32 Units des Enzyms in 50  $\mu$ l 1x Reaktionspuffer mit 1  $\mu$ g supercoiled pUC18 DNA für 16 h bei 70 °C resultiert in keiner Entwindung der DNA.

**Priming-Aktivität** Eine Inkubation von 40 Units des Enzyms in 100  $\mu$ l 1x Reaktionspuffer mit 100 ng Template-DNA führt ohne Primer zu keiner DNA-Synthese.

**PCR-Test** Gute DNA-Amplifikationen wurden bei Verwendung von Lambda-DNA (amplifiziertes Fragment 12 kb) und genomischer *Arabidopsis*-DNA (amplifiziertes Fragment 3.0 kb) als Templates erreicht.

**Verdünnungspuffer** Falls notwendig, kann das Enzym vor der Verwendung in 20 mM Tris-HCl (pH 8.0 bei 25 °C), 100 mM KCl, 0.2 mM EDTA, 55 % (v/v) Glycerin, 0.5 % Tween-20 und 0.5 % Nonidet P40 verdünnt werden. Verdünnte Enzym-lösungen können bei -20 °C bis zu sechs Monate gelagert werden.

<b>10x Reaktionspuffer Y</b> (roter Deckel)	200 mM Tris-HCl (pH 8.55), 160 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0.1% Tween 20 und <b>20 mM <math>\text{MgCl}_2</math></b> . Durch die Verwendung des Puffers Y werden die hochprozessiven Eigenschaften der peqGOLD 'Hot' Taq-DNA-Polymerase unterstützt. Der Ertrag an Amplifikationsprodukten ist besonders hoch.
<b>10x Reaktionspuffer S</b> (blauer Deckel)	100 mM Tris-HCl (pH 8.8), 500 mM KCl, 0.1% Tween 20 und <b>15 mM <math>\text{MgCl}_2</math></b> . Durch die Verwendung des Puffers S wird die Replikationsgenauigkeit der peqGOLD 'Hot' Taq-DNA-Polymerase unterstützt. Die Amplifikationsprodukte weisen bei Verwendung des Puffers S besonders hohe Spezifitäten auf.
<b>5x Enhancer Solution P</b> (grüner Deckel)	Die Verwendung der Enhancer Solution P kann insbesondere bei schwierigen Amplifikationen, wie z.B. bei GC-reichen Templates, zu einer deutlichen Verbesserung der PCR-Ergebnisse gegenüber bisherigen Standardbedingungen führen. Dies wird durch eine Modifikation der Denaturierungseigenschaften der DNA bewirkt. <b>Achtung:</b> Bei erster Verwendung der Enhancer Solution P in Kombination mit einem bestimmten Primer-Template-Paar wird der Ansatz paralleler PCR-Reaktionen mit bzw. ohne Enhancer Solution P empfohlen! Evtl. sind Anpassungen der Annealingtemperatur und Magnesiumkonzentration erforderlich.
<b>Versand</b>	Der Versand des Enzyms erfolgt gekühlt.
<b>Lagerung</b>	Um ein Bakterienwachstum zu verhindern, die während der Verwendung in die Lösungen eingebracht werden können, wird eine Lagerung bei $-20^\circ\text{C}$ empfohlen.
<b>Haltbarkeit</b>	Mindestens 18 Monate ab Lieferdatum
<b>Anwendung</b>	Für Hot Start PCR. Da die 'Hot' Taq-DNA-Polymerase bei Raumtemperatur inaktiv ist, können sämtliche Komponenten des PCR-Reaktionsansatzes ungekühlt pipettiert werden. Die volle Aktivität erreicht das Enzym während der initialen Denaturierung. Im PCR-Programm ist kein verlängerter Denaturierungsschritt erforderlich.

### Beispiel zur Erstellung eines Mastermixes

Komponente	Volumen/Reaktion	Volumen/Reaktion	Endkonzentration
10x Reaktionspuffer	5 $\mu\text{l}$	10 $\mu\text{l}$	1x
5x Enhancer Solution P	10.0 $\mu\text{l}$	20.0 $\mu\text{l}$	1x
dNTP-Mix (10 mM)	1 $\mu\text{l}$	2 $\mu\text{l}$	200 $\mu\text{M}$ jedes Nukleotides
Upstream Primer	Variabel	Variabel	0.1 – 0.5 $\mu\text{M}$
Downstream Primer	Variabel	Variabel	0.1 – 0.5 $\mu\text{M}$
'Hot' Taq-DNA-Polymerase	0.25 $\mu\text{l}$	0.5 $\mu\text{l}$	1.25 units/50 $\mu\text{l}$ Reaktion
Template DNA	Variabel	Variabel	0.1 – 0.5 $\mu\text{g}$ /50 $\mu\text{l}$ Reaktion
Steriles dest. $\text{H}_2\text{O}$	Variabel	Variabel	
Gesamtvolumen	50 $\mu\text{l}$	100 $\mu\text{l}$	

\* Einige Anwendungen, für die dieses Produkt eingesetzt werden kann, sind in bestimmten Ländern patentrechtlich geschützt. Da mit seinem Kauf keine Lizenzen für die Verwendung im Rahmen patentrechtlich geschützter Anwendungen erworben werden, kann abhängig von der Anwendung und abhängig von dem Anwendungsland der Erwerb entsprechender Lizenzen erforderlich sein.