



dUTP Perpetual *Taq* Master Mix (2x)

PCR System mit monoklonalem Antikörper für automatisierten "Hot Start"

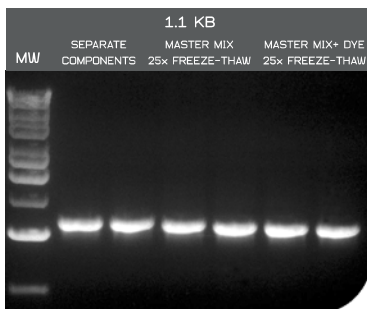
dUTP Perpetual *Taq*
Master Mix (2x)
(*Taq* DNA Polymerase)

Artikel Nr.	Größe
E2741-01	100 Reaktionen je 50 µl
E2741-02	200 Reaktionen je 50 µl
E2741-03	500 Reaktionen je 50 µl

Definition der Einheit: Eine Einheit ist die Menge des Enzyms, die erforderlich ist, um 10 nmol Deoxyribonukleotide in 30 Minuten bei 74°C in die säureunlösliche Form zu überführen. Die Reaktionsbedingungen für die Bestimmung der Einheiten sind: 50 mM Tris-HCl (pH 9.0 bei 25°C), 50 mM NaCl, 5 mM MgCl₂, 200 µM jeweils von dATP, dCTP, dGTP, dTTP (ein Gemisch aus unmarkiertem und [³H]-markiertem dTTP), 10 µg aktivierte Kalb-Thymus-DNA und 0.1 mg/ml BSA in einem Endvolumen von 50 µl.

Lagerbedingungen:

Lagerung bei -20°C (langfristig, mehr als 12 Monate haltbar) oder bei +4°C bis zu zwei Monate.



PCR Amplifikation unter Verwendung von EURx Perpetual *Taq* PCR Master Mix (2x).

Ein Amplikon einer Länge von 1.1 kb (humanes CCR5 Gen) wurde mit nicht vorgemischter Perpetual *Taq* DNA Polymerase und mit Perpetual *Taq* Master Mix vervielfältigt.

Spur MW: Molekulargewichtsmarker-Perfect 1 kb DNA Ladder (Best. Nr. E3130).

Spur POL (1,2): PCR-Amplifikationsreaktion mit 1.25 U Perpetual *Taq* DNA Polymerase, Pol Buffer B und dNTPs

Spur MM (3,4): PCR-Amplifikationsreaktion mit Perpetual *Taq* PCR Master Mix (2x), nach 25 Gefrier-/Auftau-Zyklen.

Spur MM+COL (5,6): PCR-Amplifikationsreaktion mit Perpetual *Taq* PCR Master Mix (2x) und 10 x Color Load, nach 25 Gefrier-/Auftau-Zyklen.

Um eine **vollständige Denaturierung des Antikörpers** nach Durchlaufen der ersten Temperaturrampe zu gewährleisten, wird empfohlen, **zu Beginn der PCR-Reaktion einen initialen Denaturierungsschritt für 3-5 Minuten bei 95°C einzufügen.**

Perpetual *Taq* DNA Polymerase Master Mix, mit stabiler und reproduzierbarer Amplifikationsleistung auch nach mehr als 25 Gefrier-/Auftau-Zyklen und 12-monatiger Lagerung. Vorkomplexiert mit einem hochwertigen, spezifischen monoklonalen Anti-*Taq* Antikörper für automatisierbaren "Hot Start".

Beschreibung:

- Perpetual *Taq* PCR Master Mix (2x) ist eine gebrauchsfertig abgestimmte Mischung aus Perpetual *Taq* DNA Polymerase, optimiertem Reaktionspuffer, MgCl₂ und dNTPs.
- Spart Zeit, erhöht die Reproduzierbarkeit (durch Minimierung von Kalkulations- und Pipettierfehlern) und reduziert das Risiko von Kontaminationen (wegen Verminderung der Pipettierschritte) während der PCR-Vorbereitung.
- Die Amplifikationsleistung ist identisch zu reiner Perpetual *Taq* DNA Polymerase (Best. Nr. E2500). Zusätzlich werden Aliquots reinen, nukleasefreien Wassers mitgeliefert. PCRs werden ohne das Risiko des DNA-Eintrages durch kontaminiertes Wasser angesetzt.
- Perpetual *Taq* besteht aus *Taq* DNA-Polymerase, die reversibel an einen monoklonalen anti-*Taq* Antikörper gebunden ist. Die Replikationsaktivität des Enzyms ist für die Zeitspanne bis zum ersten Denaturierungsschritt blockiert - wichtig, um Produkte unspezifischer Primerextensionen wie Primer-Dimere zu verhindern. Ermöglicht das bequeme Zusammenpipettieren von PCR - Reaktionen bei Raumtemperatur.
- Der monoklonale anti-*Taq* Antikörper denaturiert erst bei einer Temperatur von 70°C irreversibel und besitzt somit hohe thermische Stabilität.
- Die zunächst durch den monoklonalen Antikörper blockierte DNA Polymerase-Aktivität wird während des einleitenden Denaturierungsschrittes wieder hergestellt. Hierzu muss der Reaktionsmix für zwei Minuten auf 94-95°C erhitzt werden.
- „Hot Start“ PCR kann PCR-Spezifität, Ausbeute und Empfindlichkeit im Vergleich mit herkömmlichen PCR-Reaktionen erhöhen.
- Sowohl die erhöhte Spezifität als auch die Reduktion fehlerhafter Primerbindung (mispriming) verbessern die Qualität der Multiplex-PCR.
- Repliziert DNA bei 72°C (bzw. mit verminderter Geschwindigkeit auch bei niedrigeren Temperaturen). Die Halbwertszeit bei 95°C beträgt 40 min (1,2).
- Besitzt 5'→3' Exonuklease-Tätigkeit.
- Besitzt keine 3'→5' Exonuklease Aktivität.
- Fügt ein überhängendes A am 3'-Ende an (betrifft etwa 5 % der Amplikons).
- Im dUTP Perpetual *Taq* Master Mix ist dTTP partiell durch dUTP ersetzt. Das ermöglicht den selektiven Verdau von versehentlich verschleppten PCR-Produkten mittels Uracil-N-Glykosylase (UNG) als Kontaminationsschutz. Nicht dUTP-gelabelte Vorlagen-DNA (Template) ist kein Substrat für UNG.
- Perpetual *Taq* DNA-Polymerase wird zum Einsatz in PCR- und Primer-Extensionsreaktionen (primer extension) bei hohen Reaktionstemperaturen empfohlen. Mit diesem Enzym können DNA-Produkte einer Länge bis zu 10 kb erhalten werden.

Perpetual *Taq* PCR Master Mix (2x), Packungsinhalt:

1. Perpetual *Taq* PCR Master Mix (2x)
2. PCR-Wasser, nukleasefrei
3. 10 x Color Load Puffer
4. Thermolabile Uracil N-Glykosylase (UNG)

Perpetual *Taq* PCR Master Mix (2x):

Der Mix enthält 2 x Pol Buffer B mit 3 mM MgCl₂ und 0.4 mM je dNTP.

dTTP ist teilweise durch dUTP ersetzt.

Finale Konzentrationen: 1.5 mM MgCl₂ und 0.2 mM je dNTP.

10 x Color Load:

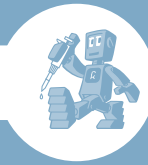
10 x Color Load enthält zwei Farbstoffe und eine Gel-Schwerelösung. Mit diesem Puffer werden Aliquots der PCR-Reaktion direkt auf ein Agarose-Gel aufgetragen.

Qualitätskontrolle:

Alle Chargen werden auf Endonuklease-, 3'-Exonuklease-, sowie einzel- und doppelsträngige DNase- Aktivitäten geprüft. SDS Polyacrylamid-Gelelektrophorese zeigt, dass typische Präparationen zu mehr als 95 % rein sind.

Literatur:

1. Chien, A., Edgar, D.B. und Trela, J.M. (1976) *J. Bacteriol.* 127, 1550.
2. Kaledin, A.S., Sliusarenko, A.G. und Gorodetski, S.I. (1980) *Biokhimiya* 45, 644.



dUTP Perpetual Taq Master Mix (2x)

PCR System mit monoklonalem Antikörper für automatisierten "Hot Start"

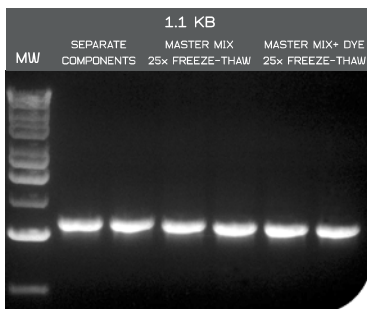
dUTP Perpetual Taq
Master Mix (2x)
(Taq DNA Polymerase)

Artikel Nr.	Größe
E2741-01	100 Reaktionen je 50 µl
E2741-02	200 Reaktionen je 50 µl
E2741-03	500 Reaktionen je 50 µl

Definition der Einheit: Eine Einheit ist die Menge des Enzyms, die erforderlich ist, um 10 nmol Deoxyribonukleotide in 30 Minuten bei 74°C in die säureunlösliche Form zu überführen. Die Reaktionsbedingungen für die Bestimmung der Einheiten sind: 50 mM Tris-HCl (pH 9.0 bei 25°C), 50 mM NaCl, 5 mM MgCl₂, 200 µM jeweils von dATP, dCTP, dGTP, dTTP (ein Gemisch aus unmarkiertem und [³H]-markiertem dTTP), 10 µg aktivierte Kalb-Thymus-DNA und 0.1 mg/ml BSA in einem Endvolumen von 50 µl.

Lagerbedingungen:

Lagerung bei -20°C (langfristig, mehr als 12 Monate haltbar) oder bei +4°C bis zu zwei Monate.



PCR Amplifikation unter Verwendung von EURx Perpetual Taq PCR Master Mix (2x).

Ein Amplikon einer Länge von 1.1 kb (humanes CCR5 Gen) wurde mit nicht vorgemischter Perpetual Taq DNA Polymerase und mit Perpetual Taq Master Mix vervielfältigt.

Spur MW: Molekulargewichtsmarker-Perfect 1 kb DNA Ladder (Best. Nr. E3130).

Spur POL (1,2): PCR-Amplifikationsreaktion mit 1.25 U Perpetual Taq DNA Polymerase, Pol Buffer B und dNTPs

Spur MM (3,4): PCR-Amplifikationsreaktion mit Perpetual Taq PCR Master Mix (2x), nach 25 Gefrier-/Auftau-Zyklen.

Spur MM+COL (5,6): PCR-Amplifikationsreaktion mit Perpetual Taq PCR Master Mix (2x) und 10 x Color Load, nach 25 Gefrier-/Auftau-Zyklen.

Um eine **vollständige Denaturierung des Antikörpers** nach Durchlaufen der ersten Temperaturrampe zu gewährleisten, wird empfohlen, **zu Beginn der PCR-Reaktion einen initialen Denaturierungsschritt für 3-5 Minuten bei 95°C einzufügen.**

Perpetual Taq DNA Polymerase Master Mix, mit stabiler und reproduzierbarer Amplifikationsleistung auch nach mehr als 25 Gefrier-/Auftau-Zyklen und 12-monatiger Lagerung. Vorkomplexiert mit einem hochwertigen, spezifischen monoklonalen Anti-Taq Antikörper für automatisierbaren "Hot Start".

Beschreibung:

- Perpetual Taq PCR Master Mix (2x) ist eine gebrauchsfertig abgestimmte Mischung aus Perpetual Taq DNA Polymerase, optimiertem Reaktionspuffer, MgCl₂ und dNTPs.
- Spart Zeit, erhöht die Reproduzierbarkeit (durch Minimierung von Kalkulations- und Pipettierfehlern) und reduziert das Risiko von Kontaminationen (wegen Verminderung der Pipettierschritte) während der PCR-Vorbereitung.
- Die Amplifikationsleistung ist identisch zu reiner Perpetual Taq DNA Polymerase (Best. Nr. E2500). Zusätzlich werden Aliquots reinen, nukleasefreien Wassers mitgeliefert. PCRs werden ohne das Risiko des DNA-Eintrages durch kontaminiertes Wasser angesetzt.
- Perpetual Taq besteht aus Taq DNA-Polymerase, die reversibel an einen monoklonalen anti-Taq Antikörper gebunden ist. Die Replikationsaktivität des Enzyms ist für die Zeitspanne bis zum ersten Denaturierungsschritt blockiert - wichtig, um Produkte unspezifischer Primerextensionen wie Primer-Dimere zu verhindern. Ermöglicht das bequeme Zusammenpipettieren von PCR - Reaktionen bei Raumtemperatur.
- Der monoklonale anti-Taq Antikörper denaturiert erst bei einer Temperatur von 70°C irreversibel und besitzt somit hohe thermische Stabilität.
- Die zunächst durch den monoklonalen Antikörper blockierte DNA Polymerase-Aktivität wird während des einleitenden Denaturierungsschrittes wieder hergestellt. Hierzu muss der Reaktionsmix für zwei Minuten auf 94-95°C erhitzt werden.
- „Hot Start“ PCR kann PCR-Spezifität, Ausbeute und Empfindlichkeit im Vergleich mit herkömmlichen PCR-Reaktionen erhöhen.
- Sowohl die erhöhte Spezifität als auch die Reduktion fehlerhafter Primerbindung (mispriming) verbessern die Qualität der Multiplex-PCR.
- Repliziert DNA bei 72°C (bzw. mit verminderter Geschwindigkeit auch bei niedrigeren Temperaturen). Die Halbwertszeit bei 95°C beträgt 40 min (1,2).
- Besitzt 5'→3' Exonuklease-Tätigkeit.
- Besitzt keine 3'→5' Exonuklease Aktivität.
- Fügt ein überhängendes A am 3'-Ende an (betrifft etwa 5 % der Amplikons).
- Im dUTP Perpetual Taq Master Mix ist dTTP partiell durch dUTP ersetzt. Das ermöglicht den selektiven Verdau von versehentlich verschleppten PCR-Produkten mittels Uracil-N-Glykosylase (UNG) als Kontaminationsschutz. Nicht dUTP-gelabelte Vorlagen-DNA (Template) ist kein Substrat für UNG.
- Perpetual Taq DNA-Polymerase wird zum Einsatz in PCR- und Primer-Extensionsreaktionen (primer extension) bei hohen Reaktionstemperaturen empfohlen. Mit diesem Enzym können DNA-Produkte einer Länge bis zu 10 kb erhalten werden.

Perpetual Taq PCR Master Mix (2x), Packungsinhalt:

1. Perpetual Taq PCR Master Mix (2x)
2. PCR-Wasser, nukleasefrei
3. 10 x Color Load Puffer
4. Thermolabile Uracil N-Glykosylase (UNG)

Perpetual Taq PCR Master Mix (2x):

Der Mix enthält 2 x Pol Buffer B mit 3 mM MgCl₂ und 0.4 mM je dNTP.

dTTP ist teilweise durch dUTP ersetzt.

Finale Konzentrationen: 1.5 mM MgCl₂ und 0.2 mM je dNTP.

10 x Color Load:

10 x Color Load enthält zwei Farbstoffe und eine Gel-Schwerelösung. Mit diesem Puffer werden Aliquots der PCR-Reaktion direkt auf ein Agarose-Gel aufgetragen.

Qualitätskontrolle:

Alle Chargen werden auf Endonuklease-, 3'-Exonuklease-, sowie einzel- und doppelsträngige DNase- Aktivitäten geprüft. SDS Polyacrylamid-Gelelektrophorese zeigt, dass typische Präparationen zu mehr als 95 % rein sind.

Literatur:

1. Chien, A., Edgar, D.B. und Trela, J.M. (1976) J. Bacteriol. 127, 1550.
2. Kaledin, A.S., Sliusarenko, A.G. und Gorodetski, S.I. (1980) Biokhimiya 45, 644.