



ADN polimerasa Green-Taq Master Mix (2x)

DG8005, DG8005-S

INTRODUCCIÓN

La ADN polimerasa Green-Taq es una mezcla maestra 2x lista para usar que contiene todos los componentes de la reacción de PCR: dNTP, tampón de PCR, Mg²⁺ y Taq ADN polimerasa. Solo es necesario agregar los cebadores y la plantilla de ADN.

La mezcla también contiene un tampón de carga de agarosa que incluye dos colorantes de seguimiento (colorante azul y amarillo) para el seguimiento visual de la migración del ADN y un compuesto denso para facilitar el descenso de las muestras en los geles de agarosa del pocillo. El colorante azul (migra con fragmentos de ADN de 3 a 5 kb en gel de agarosa al 1%) y el colorante amarillo (migra más rápido que fragmentos de ADN de 10 pb en gel de agarosa al 1%).

ENSAYO DE PCR RECOMENDADO (ENSAYO DE 20 µL)

Mezcla Green-Taq 2X	10 µl (1X)
Cebador directo (15 µM)	1 µl (0,75 pmol/µL)
Cebador inverso (15 µM)	1 µl (0,75 pmol/µL)
Plantilla de ADN	plásmido: 30-75 ng; ADNg: 100 - 500ng
H2O grado PCR	hasta 20 µl

CARACTERÍSTICAS

Listo para usar

Agrega nucleótidos adicionales (preferiblemente adenina) sin molde en los extremos 3' dejando fragmentos de PCR en 3' salientes. Este hecho permite la popular clonación TA o clonación GC.

Ambos ahorran tiempos en el proceso de PCR y en la carga de muestras de agarosa.

APLICACIONES

Diseño para aplicaciones de rendimiento medio o alto (por ejemplo, cribado de colonias)

Amplificación de fragmentos PCR para clonación TA o GC.

DEFINICIÓN DE UNIDAD

Una unidad se define como la cantidad de enzima necesaria para catalizar la incorporación de 10 nanomoles de dNTP en material insoluble en ácido en 30 minutos a 74 °C.

CONDICIONES DE ENSAYO

La actividad enzimática se ensaya en la siguiente mezcla:

Tris-HCl 25 mM pH 9,0 a 25°C, KCl 50 mM, MgCl₂ 2 mM, gelatina 0,1 mg/mL, dATP 200 µM, dGTP, dTTP, [³²-P]dCTP 100 µM (0,05 µCi/nmol) y salmón activado 12,5 µg ADN de esperma.

CERTIFICACIONES DE CALIDAD

- Probado funcionalmente en PCR.
- ADN bacteriano no detectado (por PCR).
- Actividad de nucleasas indetectable (endo-, exo y ribo-).

ALMACENAMIENTO

Conservar a -20°C



ADN polimerasa Green-Taq Master Mix (2x) DG8005, DG8005-S

INSTRUCCIONES DEL CICLO

94°C 5:00, 25-30X (94°C 0:35, TM 0:35, 72°C 1'/KB), 72°C 7:00, 4°C ∞)

Paso	Temperatura	Hora	Ciclo
Activación inicial	94°C	5 minutos	1
Desnaturalización	94°C	35 seg	
Alineamiento	55°C*	0,5 - 1 min.	25-30
Extensión	72°C**	1'/kb	
Extensión final	72°C	10 minutos	1
Almacenamiento en el ciclador	4°C	∞	1

*La temperatura de hibridación recomendada es 5 °C por debajo de la Tm de los cebadores, o utilice PCR en gradiente para optimizar la temperatura de hibridación.

**El paso de extensión recomendado es de 1 min para productos de PCR de hasta 2 kb. Para productos más largos, el tiempo de extensión debe prolongarse en 1 min/kb.

LIMITACIÓN DE USO DEL PRODUCTO

Este producto está desarrollado, diseñado y vendido exclusivamente con fines de investigación y uso in vitro únicamente. El producto no fue probado para su uso en diagnósticos o para el desarrollo de fármacos, ni es adecuado para su administración a humanos o animales.