



## EliZyme™ FAST Taq

### Účel použití:

Produkt je určen pouze pro vědecké účely, nikoliv pro diagnostické procedury.

### Skladování:

Skladujte při -20 °C a vyhněte se dlouhotrvajícímu vystavování světelnému záření. Při dodržení těchto skladovacích podmínek si kity plně udrží svou aktivitu, dokud neuběhne expirační doba uvedená na kitu. Při 4 °C mohou být reagenty skladovány až jeden měsíc.

### Popis produktu

EliZyme™ FAST Taq je robustní enzym, který lze použít pro řadu rutinních aplikací PCR, jako je genotypizace, screening a konstrukce knihoven. Tento enzym dosahuje výtečných výsledků při PCR ze široké škály templátů, včetně komplexních templátů a sekvencí bohatých na GC a AT úseky. Tento enzym má 5'-3' exonukleázovou aktivitu, ale postrádá 3'-5' exonukleázovou (proofreading) aktivitu, což vede k chybovosti přibližně 1 chyba na  $2,0 \times 10^5$  začleněných nukleotidů. PCR produkty generované pomocí EliZyme™ FAST Taq mají lepivé A-konce a lze je snadno použít pro TA klonování. Enzym je vysoce univerzální a při výrobě podléhá 12krokové purifikaci, která zahrnuje fyzikální, chemické a enzymatické odstranění hostitelské DNA. Enzym EliZyme™ FAST Taq je k dispozici v 2X koncentrovaném ready mixu a lze jej zakoupit i bez dNTP.

EliZyme™ FAST Taq MIX Red obsahuje červené barvivo, které umožňuje přímé nanášení na gel (není potřeba žádné další nanášecí barvivo) a sledování migrace během gelové elektroforézy. Tento enzym poskytuje cenově dostupný a univerzální mastermix pro rutinní aplikace s vysokou rychlostí, výtěžností, specificitou.

### Obsah

	Kat. číslo	Obsah balení	Velikost balení
EliZyme™ FAST Taq	EZ5005	1×0.1 ml 5 U/μl + 4×1 ml buffer	500 U
	EZ5010	2×0.1 ml 5 U/μl + 1×8 ml buffer	1000 U
	EZ5020	4×0.1 ml 5 U/μl + 2×8 ml buffer	2000 U
EliZyme™ FAST Taq (no dNTP)	EZ1010	1×0.2 ml 5 U/μl + 4×1 ml buffer	1000 U
	EZ1020	2×0.2 ml 5 U/μl + 1×8 ml buffer	2000 U
	EZ1040	4×0.2 ml 5 U/μl + 2×8 ml buffer	4000 U
EliZyme™ FAST Taq MIX	EZ5220	5×1 ml mix	200 rxns
	EZ5260	2×7.5 ml mix	600 rxns
EliZyme™ FAST Taq MIX Red	EZ5120	5×1 ml mix	200 rxns
	EZ5160	2×7.5 ml mix	600 rxns



	Pufr/MIX	Obsah
EliZyme™ FAST Taq	5X buffer	15 mM MgCl <sub>2</sub> , 5 mM dNTPs
EliZyme™ FAST Taq (no dNTP)	10X buffer	30 mM MgCl <sub>2</sub>
EliZyme™ FAST Taq MIX	2X mix	6 mM MgCl <sub>2</sub> , 2 mM dNTPs
EliZyme™ FAST Taq MIX Red	2X mix Red	6 mM MgCl <sub>2</sub> , 2 mM dNTPs

Doplňkový MgCl<sub>2</sub> není nutný. Složení pufru bylo optimalizováno pro maximalizaci úspěšnosti PCR.

### *EliZyme™ FAST Taq (no dNTP)*

Doporučujeme výslednou koncentraci 1 mM dNTPs (0,25 mM pro každý dNTP).

### *Primery*

Primery by měly mít teplotu tání okolo 60 °C. Zároveň by měly být navrhovány s ohledem na eliminaci tvorby primer-dimer komplexů a nespecifických produktů. Výsledná koncentrace primerů v reakci by se měla pohybovat mezi 0,2 μM a 0,6 μM.

### *PCR*

Pro experimentální stanovení optimální teploty annealingu doporučujeme provést teplotní gradient. Případně doporučujeme teplotu annealingu 55 °C a pokud jsou přítomny nespecifické produkty, teplotu zvyšovat v krocích po 2 °C.

Optimální extenze je dosažena při teplotě 72 °C. Optimální doba extenze závisí na délce ampliconu a složitosti templátu. Pro amplifikaci z eukaryotické DNA se doporučuje 20 sekund na kilobázi (kb) pro amplicony mezi 1 kb a 6 kb. U kratších ampliconů je možné použít rychlejší cyklování.

### *Složení reakční směsi*

#### EliZyme™ FAST Taq

Před použitím musí být 5X EliZyme™ Reaction Buffer rozmražený, krátce promíchaný a stočený.

Komponenty	50 μl reakce	Finální konc.
5X EliZyme™ Reaction Buffer	10 μl	1x
Forward primer (10 μM)	2 μl	400 nM
Reverse primer (10 μM)	2 μl	400 nM
Templátová DNA	< 500 ng genomické DNA, < 100 ng cDNA	variabilní
EliZyme™ Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	0.25 – 1 μl	
PCR voda	Doplnit do 50 μl	



## EliZyme™ FAST Taq (no dNTP)

Před použitím musí být 10X EliZyme™ Buffer rozmražený, krátce promíchaný a stočený.

Komponenty	50 µl reakce	Finální konc.
10X EliZyme™ Buffer	5 µl	1×
100 mM dNTPs (25 mM každý)	0.5 µl	1 mM (0.25 mM each)
Forward primer (10 µM)	2 µl	400 nM
Reverse primer (10 µM)	2 µl	400 nM
Templátová DNA	< 500 ng genomické DNA, < 100 ng cDNA	variabilní
EliZyme™ Classic Taq (5 U/µl)	0.25 – 1 µl	
PCR voda	Doplnit do 50 µl	

## EliZyme™ FAST Taq MIX

Před použitím musí být mix rozmražený, krátce promíchaný a stočený.

Komponenty	50 µl reakce	Finální konc.
2X EliZyme™ Taq MIX	25 µl	1×
Forward primer (10 µM)	2 µl	400 nM
Reverse primer (10 µM)	2 µl	400 nM
Templátová DNA	< 500 ng genomické DNA, < 100 ng cDNA	variabilní
PCR voda	Doplnit do 50 µl	

## EliZyme™ FAST Taq MIX Red

Před použitím musí být mix rozmražený, krátce promíchaný a stočený.

Komponenty	50 µl reakce	Finální konc.
2X EliZyme™ Taq MIX Red	25 µl	1×
Forward primer (10 µM)	2 µl	400 nM
Reverse primer (10 µM)	2 µl	400 nM
Templátová DNA	< 500 ng genomické DNA, <100 ng cDNA	variabilní
PCR voda	Doplnit do 50 µl	

## PCR protokol

Krok	Teplota	Čas	Cykly
Iniciace denaturace	95 °C	1 min	1
Denaturace	95 °C	15 s	
Annealing	55 – 65 °C	15 s	40
Extenze	72 °C	1 – 90 s*	

\*15 s/kb, pro amplicony kratší než 1 kb je možné použít 1 s



### Výrobce:

**ELISABETH PHARMACON, spol. s r. o.**

Rokycanova 4437/5, Brno-Židenice 615 00

[info@elisabeth.cz](mailto:info@elisabeth.cz) | [www.elisabeth.cz](http://www.elisabeth.cz) | tel.: +420 542 213 851



Katalogové číslo



Skladovací podmínky (teplotní limity)



Číslo šarže



Výrobce



Datum expirace



Počet reakcí v balení