



EliZyme™ HS Robust

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 reagentie skladovány až jeden měsíc.

Popis produktu

EliZyme™ HS Robust polymeráza byla navržena pro amplifikaci náročných a složitých DNA templátů. Vyznačuje se vyšší procesivitou, využívá protilátkou zprostředkovanou hot-start technologii, která zabraňuje nespecifické amplifikaci a tvorbě primer-dimer komplexů. DNA polymeráza zůstává neaktivní až do počátečního aktivačního kroku při 95 °C. Enzym i pufr byly optimalizovány pro vyšší úspěšnost amplifikace široké škály templátů, včetně těch s vysokým obsahem GC a AT bází. Amplifikovat lze až do délky PCR produktu 35 kb. EliZyme™ HS Robust polymeráza má chybovost přibližně 1 chybu na $5,0 \times 10^5$ inkorporovaných nukleotidů. Výsledné PCR produkty jsou opatřené A-koncem a lze je použít pro TA klonování.

Pro větší pohodlí je enzym k dispozici jako 2X Ready mix, který obsahuje všechny reakční komponenty kromě primerů a templátu. EliZyme™ HS Robust MIX Red obsahuje červené barvivo pro zviditelnění na agarózovém gelu a je tak vhodný pro přímé pipetování na gel.

Obsah

	Kat. číslo	Obsah balení	Velikost balení
EliZyme™ HS Robust	EZ5805	1×0.1 ml 5 U/μl + 4×1 ml buffer	500 U
	EZ5810	2×0.1 ml 5 U/μl + 1×8 ml buffer	1000 U
	EZ5820	4×0.1 ml 5 U/μl + 2×8 ml buffer	2000 U
EliZyme™ HS Robust MIX	EZ6008	2×1 ml mix	80 rxns
	EZ6016	4×1 ml mix	160 rxns
	EZ6060	2×7.5 ml mix	600 rxns
EliZyme™ HS Robust MIX Red	EZ5908	2×1 ml mix	80 rxns
	EZ5916	4×1 ml mix	160 rxns
	EZ5960	2×7.5 ml mix	600 rxns

	Pufr/MIX	Obsah
EliZyme™ HS Robust	5× buffer	15 mM MgCl ₂ , 5 mM dNTPs
EliZyme™ HS Robust MIX	2× mix	6 mM MgCl ₂ , 2 mM dNTPs



EliZyme™ HS Robust MIX Red 2× mix Red 6 mM MgCl₂, 2 mM dNTPs

Doplňkový MgCl₂ není nutný. Složení pufru bylo optimalizováno pro maximalizaci úspěšnosti PCR.

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 57 °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 15 sekund na kilobázi (kb) pro amplicony pod 5 kb. U ampliconů delších než 5 kb doporučujeme 40 až 60 sekund na kb.

Složení reakční směsi

EliZyme™ HS Robust

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

Komponenty	50 μl reakce	Finální konc.
5× EliZyme™ HS Robust Buffer	10 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
EliZyme™ HS Robust Polymerase (5 U/μl)	0.25–1 μl	
PCR voda	Doplnit do 50 μl	

EliZyme™ HS Robust MIX

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

Komponenty	50 μl reakce	Finální konc.
2× EliZyme™ HS Robust 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™ HS Robust MIX Red

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

Komponenty	50 µl reakce	Finální konc.
2× EliZyme™ HS Robust 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	1–2 min	1
Denaturace	95 °C	15 s	40*
Annealing	55–65 °C	15 s	
Extenze	72 °C	50 s/kb**	

*U EliZyme™ HS Robust lze použít menší počet cyklů.

**Pro amplikony o délce 5–35 kb se doporučuje doba extenze 40–60 s. Pro amplifikaci z eukaryotické DNA kratší než 5 kb se doporučuje 15 s/kb.

Výrobce:

ELISABETH PHARMACON, spol. s r. o.

Rokycanova 4437/5, Brno-Židenice 615 00

info@elisabeth.cz | www.elisabeth.cz | tel.: +420 542 213 851



Katalogové číslo



Číslo šarže



Datum expirace



Skladovací podmínky (teplotní limity)



Výrobce



Počet reakcí v balení