

## Редактирующая ДНК-полимераза AccuGO™ Pfu

(не для использования в медицинских целях)

### Комплект поставки:

1. ДНК-полимераза AccuGO™ Pfu, 100 ед (2 ед/мкл) в буфере для хранения (Кат. №С108301)
2. 5x реакционный буфер (1 мл, 1 пробирка), обеспечивающая конечную концентрацию ионов магния 2 мМ (Кат. №С108302)

### I. Описание:

Исходной формой ДНК-полимеразы AccuGO™ Pfu является Pfu ДНК-полимераза. Особенности модифицированной формы AccuGO™ Pfu – короткое время элонгации и высокая производительность. Фермент создан для репликации последовательностей ДНК, требующих высокой точности воспроизведения с минимальным количеством ошибок в сочетании с высокой производительностью. Как и стандартная pfu, AccuGO™ Pfu обладает 3'→5' экзонуклеазной активностью, позволяющей корректировать ошибки репликации в ходе синтеза ДНК. Кроме того, AccuGO™ обладает лучшей процессивностью, чем pfu, дольше не диссоциируя из реакционного комплекса с ДНК. Поэтому AccuGO™ легко амплифицирует ДНК с тупыми концами размером до 10 kb с различных матриц. Даже если количество GC-пар достигает в последовательности ДНК 70%, AccuGO™ работает с высокой производительностью. Суммируя, можно сказать, что ДНК-полимераза AccuGO™ – идеальный инструмент для молекулярного клонирования длинных ампликонов со сложным составом.

### II. Приложения

1. ПЦР с высокой точностью.
2. Рутинная амплификация ДНК размером до 10 kb.
3. Использование продуктов ПЦР для клонирования и экспрессии.

### III. Условия хранения

1,5 года при –20°C.

### IV. Рекомендуемые условия ПЦР

| Компонент                             | Объем      | Конечная конц-ция |
|---------------------------------------|------------|-------------------|
| AccuGO™ Pfu ДНК-полимераза (2 ед/мкл) | 0,5 мкл    | 1 ед              |
| 5x реакционный AccuGO™ Pfu            | 10 мкл     | 1x                |
| 2,5 мМ/10 мМ NTP                      | 4/1 мкл    | 0,2 мМ            |
| 10 μМ прямого праймера                | 1 мкл      | 0,2 мкМ           |
| 10 μМ обратного праймера              | 1 мкл      | 0,2 мкМ           |
| Матрица ДНК                           | переменный |                   |
| Вода без нуклеаз                      | До 50 мкл  |                   |
| Общий объем                           |            | 50 мкл            |

| ДНК            | Кол-во на реакцию |
|----------------|-------------------|
| Геномная ДНК   | 10-250 нг         |
| Плазмидная ДНК | 1 пкг-10 нг       |
| кДНК           | 1-100 нг          |

### V. Температурный режим амплификации для рутинной ПЦР

С целью достижения необходимых специфичности и амплификации рекомендуемые параметры можно оптимизировать для каждого нового сочетания праймеров и матрицы.

| Кол-во повторов | Этап                  | Температура | Продолжительность |
|-----------------|-----------------------|-------------|-------------------|
| 1               | Начальная денатурация | 95°C        | 1-5 мин           |
| 25-35           | Денатурация           | 95°C        | 10-30 сек         |
|                 | Отжиг                 | 45-72°C     | 10-30 сек         |
|                 | Элонгация             | 72°C        | 15-30 сек/Kb      |
| 1               | Финальная элонгация   | 72°C        | 5-10 мин          |
|                 | Инкубация             | 14°C        | --                |

### VI. Экспериментальные данные

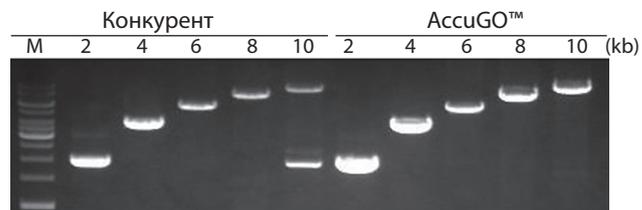


Рис. 1. Сравнение амплификации с использованием AccuGO™ и полимеразы другого производителя. (Матрица – λДНК, 5 нг)

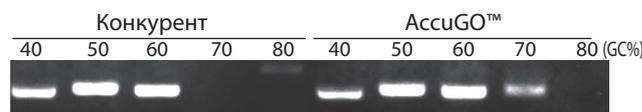


Рис. 2. Сравнение устойчивости к содержанию GC-пар между AccuGO™ и полимеразы другого производителя. (Матрица – λДНК, 5 нг)

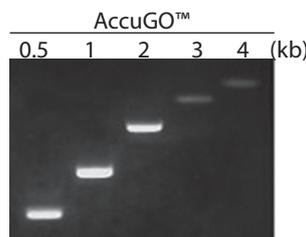


Рис. 3. Сравнение амплификации фрагментов различной длины с продолжительностью элонгации 30 сек с использованием AccuGO™. (Матрица – λДНК, 5 нг)



| Кат. №  | Описание  |
|---------|---|
| С108300 | Редактирующая ДНК-полимераза AccuGO™ Pfu для ПЦР, 100 ед (2 ед/мкл) в буфере для хранения, вкл. 5x реакционный буфер AccuGO™ (1 мл в пробирке) с конечной концентрацией 2 мМ Mg <sup>2+</sup> /реакцию, хранить при –20°C |