



Amplificasa®

ADN Polimerasa Termoestable

EA500 — 500 Unidades

Para Uso Exclusivo en Laboratorios de Investigación.

Descripción:

Amplificasa® es una ADN-Polimerasa termoestable recombinante que proviene de *Thermus aquaticus*¹. Es una enzima altamente purificada expresada en *E. coli*. **Amplificasa** puede ser utilizada en diversos procesos de amplificación, secuenciación y marcaje de ADN.²

Componentes:

1 vial: Amortiguador de Reacción 10X (KCl 500 mM, Tris-HCl pH 8.3 100 mM, gelatina 10 µg/ml, 1% Triton X100, 1.5 mg/ml BSA.) 1ml.

1 vial: Cloruro de Magnesio 20X (30 mM), 1ml.

Amplificasa® (5 Unidades/µl), 100 µl

Condiciones Típicas de una Reacción de Amplificación para 100 µl:

	ADN Control	ADN experimental
1.- Amortiguador 10X	10 µl	10 µl
2.- MgCl ₂ 20X [1.5 mM final]	5 µl	5 µl
3.- Deoxinucleótidos 10X (no incluidos) (dATP, dCTP, dGTP, dTTP 2 mM c/u)	10 µl	10 µl
4.- ADN control positivo 100X (no incluido) (M13 cadena sencilla, 10 µg/ml)	1 µl	(10-100 ng)
5.- Iniciadores 10X (no incluidos) (10µM c/u)	10 µl	(1µM c/u)
6.- H ₂ O	63.5 µl	cbp 100 µl
7.- Amplificasa®	0.5 µl	0.5 µl

Condiciones de Amplificación (ADN control):

1 ciclo (94°C, 1min. 30 seg.); 30 ciclos (94°C, 15 seg.; 55°C, 25 seg.; 72°C, 30 seg.),
1 ciclo (72°C, 3 min.)

Notas: Si con sus reactivos experimentales, la reacción de amplificación no funciona, se recomienda variar básicamente dos parámetros:

1.- Temperatura de reasociación; 2.- Concentración de MgCl₂.

Control de Calidad: El análisis en gel de poliacrilamida-SDS (10%) muestra una sola banda de 94 kDa. Estabilidad térmica: Vida media es de ~40 minutos a 95°C y 10 minutos a 98°C. No se detecta actividad de endonucleasas o exonucleasas.

Almacenar a -20°C. La vida media de la enzima a esta temperatura es de 4 años.

ATENCIÓN: Centrifugue brevemente el contenido de los tubos antes de usar.

Amortiguador de Almacenamiento de la Enzima: HEPES 20mM pH 7, KCl 100mM, EDTA 0.1mM, PMSF 0.5mM, DTT 1mM, glicerol 50% v/v.

Referencias:

- 1.- Kaledin, A.S., Slyusarenko, A.G. and Gorodetskii, S.I. (1980) *Biokhimya* 45:644-651.
- 2.- Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. and White; T.J. (1990). *PCR protocols: A guide to methods and applications*, Academic Press