



EliZyme™ HS FAST

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™ HS FAST využívá technologii hot-start k inaktivaci enzymu při teplotě pod 65 °C a zamezení tvorby primer-dimer komplexů a nespecifických produktů. DNA polymeráza v **EliZyme™ HS FAST** je inaktivována až do počátečního aktivačního kroku při 95 °C. **EliZyme™ HS FAST** je vhodný i na složité PCR templáty. Mix je rezistentní vůči PCR inhibitorům a umožňuje tak *direct* PCR bakteriálních kultur, bakteriálních kolonií, krve a moči bez nutnosti předzpracování vzorků.

EliZyme™ HS FAST je robustní enzymový systém vhodný na rutinní PCR, multiplex PCR, amplifikace DNA pro Sangerovo sekvenování a další genotypizující aplikace.

Enzymový systém se vyznačuje vyšší rychlostí PCR, výtěžností a specificitou. **EliZyme™ HS FAST** dosahuje výtečných PCR výsledků i na složitých templátech s regiony bohatými na GC a AT úseky.

EliZyme™ HS FAST Taq DNA polymeráza má 5'-3' exonukleázovou aktivitu, avšak není aktivní ve směru 3'-5' (*proofreading*). Chybovost je přibližně 1 chyba na $2,0 \times 10^5$ začleněných nukleotidů. PCR produkty mohou být klonovány do TA klonovacích vektorů, protože **EliZyme™ HS FAST** vytváří produkty s A-koncem.

Pro větší komfort je **EliZyme™ HS FAST** dostupný také ve verzi 2x ready mix. **EliZyme™ HS FAST MIX Red** obsahuje červené barvivo pro zviditelnění na agarózovém gelu a je tak vhodný pro přímé pipetování do gelu.

Obsah

	Kat. číslo	Obsah balení	Velikost balení
EliZyme™ HS FAST	EZ5505	1x0,1 ml 5 U/μl + 4x1 ml buffer	500 U
	EZ5510	2x0,1 ml 5 U/μl + 1x8 ml buffer	1000 U
	EZ5520	4x0,1 ml 5 U/μl + 2x8 ml buffer	2000 U
EliZyme™ HS FAST MIX	EZ5720	5x1 ml mix	200 rxns
	EZ5760	2x7,5 ml mix	600 rxns
EliZyme™ HS FAST MIX Red	EZ5620	5x1 ml mix	200 rxns
	EZ5660	2x7,5 ml mix	600 rxns



	Buffer/MIX	Obsah
EliZyme™ HS FAST	5x buffer	15 mM MgCl ₂ , 5 mM dNTPs
EliZyme™ HS FAST MIX	2x mix	6 mM MgCl ₂ , 2 mM dNTPs
EliZyme™ HS FAST MIX Red	2x mix Red	6 mM MgCl ₂ , 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 multiplexovou PCR nedoporučujeme používat *fast* programy. Pro zvýšení výtěžnosti u tohoto typu PCR doporučujeme čas finální extenze nastavit na 90 vteřin.

Pro kolonovou PCR použijte sterilní špičky pro odběr bakteriální kolonie a resuspendujte v 50 µl reakce, jak je popsáno níže. Pracujete-li s tekutou kulturou, přidejte z ní do finálního mixu 5 µl. Počáteční denaturační čas zvyšte na 10 minut.

Pro *direct* PCR přidejte 2 µl krve nebo moče do 50 µl reakce, jak je popsáno níže.

Složení reakční směsi

EliZyme™ HS FAST

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	5 – 500 ng genomické DNA, < 100 ng cDNA	variabilní
EliZyme™ HS Taq DNA polymerase (5 U/µl)	0,25 – 1 µl	
PCR voda	Doplnit do 50 µl	



EliZyme™ HS FAST MIX

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

Komponenty	50 µl reakce	Finální konc.
2x EliZyme™ HS Taq MIX	25 µl	1x
Forward primer (10 µM)	2 µl	400 nM
Reverse primer (10 µM)	2 µl	400 nM
Templátová DNA	5 – 500 ng genomické DNA, < 100 ng cDNA	variabilní
PCR voda	Doplnit do 50 µl	

EliZyme™ HS FAST MIX Red

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

Komponenty	50 µl reakce	Finální konc.
2x EliZyme™ HS Taq MIX Red	25 µl	1x
Forward primer (10 µM)	2 µl	400 nM
Reverse primer (10 µM)	2 µl	400 nM
Templátová DNA	5 – 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	1 – 90 s**	
Finální extenze	72 °C	90 s***	1

*Pro PCR z bakteriálních kolonií zvyšte čas počáteční denaturace na 10 minut.

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

***Pouze pro multiplexovou PCR.



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