

Instrukcja

T7 Screen PCR Mix

Gotowa mieszanina do szybkiej selekcji rekombinantów klonowanych do wektorów typu pET. Zawiera termostabilną polimerazę DNA oraz barwnik ułatwiający obserwację elektroforezy. Mix jest dwukrotnie stężony.

numer katalogowy	wielkość
2007-250	250 reakcji w 20 μ l

Produkt przeznaczony wyłącznie do badań naukowych.

Gwarancja

Firma A&A Biotechnology udziela gwarancji na niniejszy produkt.

Firma nie gwarantuje poprawnego działania produktu w przypadku:

- odstępstwa od dostarczonego wraz z produktem protokołu
- braku zalecanego w niniejszym protokole wyposażenia i materiałów
- użycia innych odczynników niż zalecane lub które nie wchodzą w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Opis

T7 Screen PCR Mix służy do przeprowadzenia szybkiej selekcji rekombinantów klonowanych do wektorów typu pET zawierających sekwencję promotora i terminatora T7.

T7 Screen PCR Mix jest gotową mieszaniną do PCR zawierającą optymalne stężenie termostabilnej polimerazy DNA, buforu PCR z $MgCl_2$, nukleotydów oraz parę uniwersalnych starterów T7

o sekwencjach:

T7 promotor 5'-TAA TAC gAC TCA CTA TAG gg-3'

T7 terminator 5'-gCT AgT TAT TgC TCA gCg g-3'

Mieszanina zawiera czerwony barwnik oraz bufor obciążający, dlatego próbki po zakończonej reakcji mogą być bezpośrednio nanoszone na żel.

Skład

	2007-250	przechowywanie
T7 Screen PCR Mix	2 x 1,25 ml	-20 °C

Skład mieszaniny T7 Screen PCR Mix

składnik

Termostabilna polimeraza DNA

Bufor reakcyjny z jonami Mg

dNTPs

Para uniwersalnych starterów T7

czerwony barwnik oraz bufor obciążający

Uwagi

- Przed użyciem całkowicie rozmrozić i starannie wymieszać przez odwracanie próbki.
- Cykliczne, siedmiokrotne rozmrażanie i zamrażanie nie wpływa na wydajność i aktywność produktu.

Proponowany protokół przygotowania hodowli bakteryjnych do skringu metodą PCR

1. Rozporcjować po 100 µl pożywki LB (nie ma w zestawie) do studzienek płytki titracyjnej.
2. Przenieść jałową wykałaczką lub końcówką pipety niewielką ilość pojedynczej hodowli bakteryjnej i wymieszać z pożywką. Przenieść tym sposobem wszystkie analizowane kolonie rekombinantów do odpowiednich studzienek w płytce. Przykryć płytkę pokrywką.
3. Inkubować płytkę w 37 °C przez 2 godz.

Proponowany protokół przygotowania reakcji PCR

1. Rozmrozić T7 Screen PCR Mix w lodzie, a następnie wymieszać przez odwracanie probówek, wirować przez 10 s i wstawić ponownie do lodu.
2. Umieścić probówki / płytki reakcyjne PCR w lodzie i dodać kolejno:

składnik	objętość reakcji PCR	
	20 µl	10 µl
T7 Screen PCR Mix	19 µl	9 µl
Hodowla bakteryjna	1 µl	1 µl

3. Mieszanie reakcyjną delikatnie wymieszać. W razie potrzeby nanieść warstwę oleju mineralnego (zalecane dla termocyklerów bez pokrywy grzejnej).
4. Probówki / płytki umieścić w termocyklerze i uruchomić program.

Proponowany profil PCR:

etap	temperatura	czas
Wstępna denaturacja	94 °C	5 min
30 cykli	94 °C	30 s
	55 °C	30 s
	72 °C	30 s
Wydłużanie końcowe	72 °C	7 min

5. Po zakończeniu reakcji próbki nanosić bezpośrednio na żel.
UWAGA: Podczas analizy wyników selekcji właściwych rekombinantów należy uwzględnić długość sekwencji MCS danego wektora.



A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science

A&A Biotechnology, ul. Strzelca 40, 80-299 Gdańsk, Poland
phone +48 883 323 761, +48 600 776 268
info@aabiotech.com, www.aabiotech.com

