

STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase Kit

Ordering Info

TBK0022, 20 U (5U/μL)(sample)

TBK0023, 500 U (5U/μL)

TBK0024, 1.000 U (5U/μL)

Description

STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase Kit is highly flexible kit that includes all PCR components shipped in individual vials to allow for customizable PCR reactions. STOUT Recombinant Taq DNA polymerases (MW 94 kDa) is robust thermostable polymerase produced in *Escherichia coli*. Highly purified the enzyme has a strong 5'→3' polymerase activity. It has a weak 5'→3' exonuclease activity while 3'→5' exonuclease activity is absent.

Features

- **High Thermostability**, the enzyme half-life at 94 °C is 40 minutes.
- **Addition without template** of 3'adenine at the end of PCR fragment.
- **Immediate Activation**.
- Error Rate 1–20x10⁻⁵ errors/bp per cycle.

Applications

- Daily research: standard PCR for targets up 5kb, recombinant clone or cell line checking, etc.
- Generation of PCR fragments for TA cloning.
- DNA Labelling due to capacity to incorporate modified nucleotides.
- DNA Sequencing.

Kit Components

Components	TBK0023	TBK0024
STOUT™ Taq DNA polymerase (5 U/μL)	100 μL	200 μL
STOUT™ PCR Buffer (10x)	1.5 mL	2 x 1.5 mL
MgCl ₂ 25 mM	1.5 mL	2 x 1.5 mL
High-Q™ dNTPs 10 mM TOTAL	1 mL	2 x 1 mL

Order Info Kit Components: STOUT™ Recombinant Taq DNA polymerase (TBZ0201, TBZ0202) | STOUT™ PCR Buffer 10x (TBB0310) | MgCl₂ 25 mM (TBR0215) | High-Q™ dNTPs 10 mM TOTAL (TBR0209).

Storage

Store at -20°C. Shipped in blue ice.

Unit Definition

One unit of STOUT™ Recombinant Taq DNA polymerase catalyzes the incorporation of 10 nanomoles of dNTPs into acid-insoluble material in 30 minutes at 74 °C.

Quality Control

Functionally tested in a 1kb PCR amplification (GC 52%).

Material required (not supplied)

- PCR Grade Water (TBB0303)
- PCR Tubes
- Specific Primers

Also available:

STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase Master Mix (2x) (TBK0028, TBK0029)

PROTOCOL

1. Thawing all components on ice. Vortex and centrifugate them.
2. On ice, prepare a mix of the following components, considering the number of samples plus two extra reactions.

Reaction Components	Final Concentration	Volume	Volume
STOUT™ PCR Buffer 10x	1 x	2 µL	5 µL
MgCl ₂ 25 mM	2.5 mM	2 µL	5 µL
High-Q™ dNTPs Mix 10 mM _{TOTAL}	0.8 mM	1.6 µL	4 µL
Forward Primer (15 pmol/ µL)	0.2-0.75 µM	0.3-1 µL	1.7-2.5 µL
Reverse Primer (15 pmol/ µL)	0.2-0.75 µM	0.3-1 µL	1.7-2.5 µL
STOUT™ Taq DNA polymerase (5 U/ µL)	0.05 U/ µL	0.2 µL	0.5 µL
Water, molecular biology grade		up 20 µL*	up 50 µL*
DNA template (add in step 4)		*	*
Final Volume		20 µL	50 µL

* consider volume of template to be added in step 4.

3. Distribute the mix prepared in each PCR tube or well.
4. Add in each tube the DNA sample (plasmid DNA: 10-75 ng; gDNA: 100-500 ng). Mix well.
5. Set up thermocycler:

Process	Cycles	Temperature	Time
Initial denaturation	1 x	94 °C	5:00
Denaturation		94 °C	0:35
Annealing	25 - 30 x	T _m	0:35
Extension		72 °C	1:00 per kb
Final Extension	1 x	72 °C	10:00
Conservation	1 x	4 °C	∞

STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase Kit

Referencias

TBK0022, 20 U (5 U/μL)(muestra)

TBK0023, 500 U (5 U/μL)

TBK0024, 1.000 U (5 U/μL)

Descripción

STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase Kit es un kit altamente flexible que incluye todos los componentes de una PCR presentados en viales individuales para permitir ajustar las reacciones de PCR a condiciones específicas. El kit incluye STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase (94 kDa), una polimerasa robusta y termoestable producida en *Escherichia coli*. La enzima, altamente purificada, tiene una fuerte actividad polimerasa 5' → 3'. Presenta una actividad exonucleasa 5' → 3' débil, mientras que carece de actividad exonucleasa 3' → 5'.

Características

- **Elevada termoestabilidad**, con tiempo de vida media a 94 °C de 40 minutos.
- **Adición sin molde** de adenina en los extremos 3' del fragmento amplificado por PCR.
- **Activación inmediata**.
- Rango de error 1–20x10⁻⁵ errores/pb por ciclo.

Aplicaciones

- Investigación de rutina: PCR standard de moldes de hasta 5 kb, comprobación de clones recombinantes o líneas celulares, etc.
- Clonación TA de fragmentos amplificados.
- Marcaje de AND debido a la capacidad para incorporar nucleótidos modificados.
- Secuenciación de ADN.

Componentes

Componentes	TBK0023	TBK0024
STOUT™ Taq DNA polymerase (5 U/μL)	100 μL	200 μL
STOUT™ PCR Buffer (10x)	1,5 mL	2 x 1,5 mL
MgCl ₂ 25 mM	1,5 mL	2 x 1,5 mL
High-Q™ dNTPs 10 mM TOTAL	1 mL	2 x 1 mL

Referencia Componentes: STOUT™ Recombinant Taq DNA polymerase (TBZ0201, TBZ0202) | STOUT™ PCR Buffer 10x (TBB0310) | MgCl₂ 25 mM (TBR0215) | High-Q™ dNTPs 10 mM TOTAL (TBR0209).

Almacenaje

Conservar a -20°C. Shipped in blue ice.

Definición de Unidad

Una unidad de STOUT™ Recombinant Taq DNA polymerase cataliza la incorporación de 10 nanomoles de dNTPs en 30 minutos a 74 °C.

Control de Calidad

Funcionalmente evaluada en la amplificación por PCR de un fragmento de 1 kb (GC 52%).

Material requerido (no suministrado)

- PCR Grade Water (TBB0303)
- Tubos de PCR
- Primers específicos

También disponemos de:

STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase Master Mix (2x) (TBK0028, TBK0029)

PROTOCOLO

1. Descongelar todos los componentes en hielo. Dar un vortex a cada tubo y centrifugar brevemente.
2. En hielo, preparar una mezcla de los siguientes componentes. Considere dos reacciones extra por encima del número de muestras.

Componentes	Concentración Final	Volumen	Volumen
STOUT™ PCR Buffer 10x	1 x	2 µL	5 µL
MgCl ₂ 25 mM	2,5 mM	2 µL	5 µL
High-Q™ dNTPs Mix 10 mM _{TOTAL}	0,8 mM	1,6 µL	4 µL
Forward Primer (15 pmol/ µL)	0,2-0,75 µM	0,3-1 µL	1,7-2,5 µL
Reverse Primer (15 pmol/ µL)	0,2-0,75 µM	0,3-1 µL	1,7-2,5 µL
STOUT™ Taq DNA polymerase (5 U/ µL)	0,05 U/ µL	0,2 µL	0,5 µL
Water, molecular biology grade		up 20 µL*	up 50 µL*
ADN molde (añadir en paso 4)		*	*
Volumen Final		20 µL	50 µL

* considerar el volumen de molde a añadir en el paso 4.

3. Distribuir la mezcla preparada en cada tubo de PCR o pocillo.
4. Añadir en cada tubo el ADN molde (ADN plásmido: 10-75 ng; ADN genómico: 100-500 ng). Mezclar bien.
5. Programar el termociclador:

Proceso	Ciclos	Temperatura	Tiempo
Desnaturalización Inicial	1 x	94 °C	5:00
Desnaturalización		94 °C	0:35
Anillamiento	25 - 30 x	T _m	0:35
Extensión		72 °C	1:00 por kb
Extensión Final	1 x	72 °C	10:00
Conservación	1 x	4 °C	∞