

# STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase Master Mix (2x)

## Ordering info

TBK0028, 5 reactions (sample)

TBK0029, 4 x 1.25 mL (200 reactions)

TBK0030, 8 x 1.25 mL (400 reactions)

## Description

STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase Master Mix (2x) is an optimized formulation to enable successful amplification in a process with reduced manipulation. The formula contains MgCl<sub>2</sub>, pure dNTPs, PCR enhancer and our highly purified thermostable STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase. 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

- **Optima formulation** in routine PCR.
- **Ready to use**, avoiding mistakes in PCR reaction preparation.
- **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<sup>-5</sup> 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.

## Kit Components

Components	TBK0029	TBK0030
STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase Master Mix (2x)	4 x 1.25 mL	8 x 1.25 mL
PCR Grade Water, nuclease free	3 x 2 mL	5 x 2 mL

**Order Info Kit Components:** PCR Grade Water, nuclease free (TBB0303).

## 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 Tubes.
- Primers.

## PROTOCOL

### I. PREPARING REACTIONS

1. Gently vortex and briefly centrifuge all solutions after thawing.
2. Place a tube on ice and add the following components for each 50  $\mu$ L reaction. Prepare sufficient master mix for the number of reactions. Consider one or two extras:

Components	Volume	Final Concentration
STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase Master Mix (2x)	25 $\mu$ L	1x
Forward primer 15 $\mu$ M (15 pmol/ $\mu$ L)	1 $\mu$ L	0.75 $\mu$ M
Reverse primer 15 $\mu$ M (15 pmol/ $\mu$ L)	1 $\mu$ L	0.75 $\mu$ M
PCR Grade Water, nuclease-free	up 50 $\mu$ L	
Template DNA (add in step 4)		**
<b>Final Volume</b>	<b>50 <math>\mu</math>L</b>	

\*\* Optimal amounts of template DNA are 10-30 ng for both plasmid and phage DNA, and 0.3- 1  $\mu$ g for genomic DNA.

3. Aliquot the master mix into individual PCR tubes.
4. Gently vortex and spin down the samples. Add template DNA.

### II. PCR SETUP

1. Perform PCR using recommended thermal cycling conditions:

Step	Cycles	Temperature	Time
Initial denaturation	1 x	94 °C	5:00
Denaturation		94 °C	0:35
Annealing	25 - 30 x	Tm	0:35
Extension		72 °C	1:00 per kb
Final Extension	1 x	72 °C	10:00
Conservation	1 x	4 °C	$\infty$

2. Store the samples at -20°C until use.

# STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase Master Mix (2x)

## Referencias

- TBK0028, 5 reacciones (muestra)
- TBK0029, 4 x 1,25 mL (200 reacciones)
- TBK0030, 8 x 1,25 mL (400 reacciones)

## Descripción

STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase Master Mix (2x) es una formulación optimizada para permitir una excelente amplificación a través de un proceso que exige poca manipulación. La fórmula contiene MgCl<sub>2</sub>, dNTPs puros, un potenciador de PCR y nuestra STOUT™ Recombinant Taq DNA Polimerasa termoestable. La enzima tiene un alta pureza y una fuerte actividad polimerasa 5'→3'. Además tiene débil actividad exonucleasa 5'→3' mientras que carece de actividad exonucleasa 3'→5'.

## Características

- Formulación óptima en PCR de rutina.
- Lista para usar, evitando errores y posibles contaminaciones en la preparación de la reacción de PCR.
- Elevada termoestabilidad, con tiempo de vida media a 94 °C de 40 minutos.
- Añade adenina sin molde en los extremos 3' del fragmento amplificado por PCR.
- Activación inmediata.
- Rango de error 1–20x10<sup>-5</sup> errores/pb por ciclo.

## Aplicaciones

- PCR estándar para amplicones de hasta 5 kb.
- Comprobación clones recombinantes, de líneas celulares, etc.
- Clonación TA de los fragmentos amplificados.

## Componentes

Componentes	TBK0029	TBK0030
STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase Master Mix (2x)	4 x 1,25 mL	8 x 1,25 mL
PCR Grade Water, nuclease free	3 x 2 mL	5 x 2 mL

*Referencia Componentes: PCR Grade Water, nuclease free (TBB0303).*

## Almacenaje

Conservar a -20°C. El producto se envía con hielo azul.

## Definición de Unidad

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

## Control de Calidad

Funcionalmente testado en una PCR de 1 kb (GC 52%).

## Material requerido (no suministrado)

- Tubos PCR.
- Primers.

## PROTOCOLO

### I. PREPARACIÓN DE REACCIONES

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	Volumen	Concentración Final
STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase Master Mix (2x)	25 µL	1x
Forward primer 15 µM (15 pmol/µL)	1 µL	0,75 µM
Reverse primer 15 µM (15 pmol/µL)	1 µL	0,75 µM
PCR Grade Water, nuclease-free	up 50 µL	
ADN Molde (añadir en el paso 4)		**
<b>Volumen Final</b>	<b>50 µL</b>	

\*\* Las cantidades óptimas de ADN molde son 10-30 ng tanto para plásmido como ADN de fagos y 0,3- 1 µg de ADN genómico.

3. Distribuir la mezcla preparada en cada tubo de PCR o pocillo.
4. Añadir en cada tubo el ADN molde. Mezclar bien.

### II. PCR

1. Programar la PCR atendiendo a las siguientes condiciones:

Pasos	Ciclos	Temperatura	Tiempo
Desnaturalización Inicial	1 x	94 °C	5:00
Desnaturalización		94 °C	0:35
Anillamiento	25 - 30 x	T <sub>m</sub>	0:35
Extensión		72 °C	1:00 por kb
Extensión Final	1 x	72 °C	10:00
Conservación	1 x	4 °C	∞

2. Conservar las muestras a -20 °C hasta su uso.