

WARM™ HotStart Taq DNA Polymerase Kit

Ordering Info

TBK0035, 20 U (5 U/μL)(sample)

TBK0036, 500 U (5 U/μL)

TBK0037, 1.000 U (5 U/μL)

Description

WARM™ HotStart Taq DNA Polymerase Kit is a convenient kit that includes the hot-start enzyme WARM™ START Taq DNA polymerase and highly purity dNTPs. WARM™ HotStart Taq DNA polymerase is a thermostable polymerase from *Thermus aquaticus* produced in *Escherichia coli* reversibly inactivated by antibody binding. Once the enzyme is activated it has a strong 5'→3' polymerase activity.

Features

- **Enhanced specificity and sensibility**, amplifies low copy number targets with reduced non-specific
- **Thermostable** half-life at 94 °C is 40 minutes.
- **Suitable for TA cloning purposes**, the enzyme adds 3'adenine at the end of PCR fragment.
- **Activation Controlled**, inactive at low temperatures and fully activated at temperature > 70°C.
- Error Rate 1–20x10⁻⁵ errors/bp per cycle.

Applications

- Real time PCR to quantify DNA or cDNA targets, gene expression, SNPs.
- Genotyping.
- Generation of PCR fragments for TA cloning.
- Amplification of PCR fragments up 5 kb.

Kit Components

Components	TBK0036	TBK0037
WARM™ HotStart Taq DNA polymerase (5 U/μL)	100 μL	200 μL
WARM™ 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 10mM TOTAL	1 mL	2 x 1 mL

Order Info Kit Components: WARM™ PCR Buffer 10x (TBB0311) | 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 WARM™ HotStart 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
- Primers

PROTOCOL

1. Thawing all components on ice. Vortex them and centrifugate.
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
WARM™ PCR Buffer 10x	1 x	2 µL	5 µL
MgCl ₂ 25 mM	2.5 mM	2 µL	5 µL
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
WARM™ HotStart 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, cDNA: 10-75 ng; gDNA: 100-500 ng). Mix well.
5. Set up thermocycler,

Process	Cycles	Temperature	Time
Enzyme Activation	1 x	94 °C	15:00
Denaturation		94 °C	0:35
Annealing	30-40 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	∞

6. Store the PCR samples at -20°C.

WARM™ HotStart Taq DNA Polymerase Kit

Referencias

TBK0035, 20 U (5 U/μL)(muestra)

TBK0036, 500 U (5 U/μL)

TBK0037, 1.000 U (5 U/μL)

Descripción

WARM™ HotStart Taq DNA Polymerase Kit es un kit práctico que incluye la enzima hot-start WARM™ START Taq DNA polimerasa y dNTPs de alta pureza. La enzima WARM™ HotStart Taq DNA polimerasa es una polimerasa termoestable de *Thermus aquaticus* producida en *Escherichia coli*, inactivada de manera reversible mediante la unión de anticuerpos. Una vez activada, la enzima presenta una fuerte actividad polimerasa 5' → 3'.

Componentes

Componentes	TBK0036	TBK0037
WARM™ HotStart Taq DNA polymerase (5 U/μL)	100 μL	200 μL
WARM™ 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 10mM TOTAL	1 mL	2 x 1 mL

Referencia Componentes: WARM™ PCR Buffer 10x (TBB0311) | MgCl₂ 25 mM (TBR0215) | High-Q™ dNTPs 10 mM TOTAL (TBR0209).

Almacenaje

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

Características

- **Especificidad y sensibilidad mejoradas**, amplifica moldes de bajo número de copias con baja inespecificidad.
- **Alta termoestabilidad**, con tiempo de vida media a 94 °C de 40 minutos.
- **Suitable for TA cloning purposes**, the enzyme adds 3' adenine at the end of PCR fragment.
- **Activación Controlada**, enzima inactiva a bajas temperaturas y totalmente activa a temperaturas > 70°C.
- Rango de error 1–20x10⁻⁵ errores/pb por ciclo.

Definición de Unidad

Una unidad de WARM™ HotStart 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%).

Aplicaciones

- PCR en tiempo real para cuantificación de ADN o ADN copia, expresión génica, SNPs.
- Genotipado.
- Clonación TA de los fragmentos amplificados.
- Amplificación de fragmentos de ADN de hasta 5 kb.

Material requerido (no suministrado)

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

PROTOCOLO

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

Componentes	Concentración Final	Volumen	Volumen
WARM™ PCR Buffer 10x	1 x	2 µL	5 µL
MgCl ₂ 25 mM	2,5 mM	2 µL	5 µL
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
WARM™ HotStart 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 el paso 4)		*	*
Volumen Final		20 µL	50 µL

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

- Distribuir la mezcla preparada en cada tubo de PCR o pocillo.
- Añadir en cada tubo el ADN molde (ADN plásmido, ADN copia: 10-75 ng; ADN genómico: 100-500 ng). Mezclar bien.
- Programar el termociclador atendiendo a las siguientes condiciones:

Proceso	Ciclos	Temperatura	Tiempo
Desnaturalización Inicial	1 x	94 °C	15:00
Desnaturalización		94 °C	0:35
Anillamiento	30-40 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	∞

- Conservar las muestras de PCR a -20°C.