

STOUT™ Recombinant Taq DNA polymerase

Ordering Info

TBZ0201, 500 U (5 U/μL)

TBZ0202, 1000 U (5 U/μL)

Description

STOUT™ Recombinant Taq DNA polymerase is a thermostable polymerase from *Thermus aquaticus* 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.

All references include separate MgCl₂ solution (25 mM) and STOUT™ PCR Buffer (10x) for maximum flexibility.

Features

- MW 94 kDa.
- Thermostable half-life at 94 °C is 40 minutes.
- Add 3'adenine at the end of PCR fragment without template.
- Immediate Activation.
- Error Rate 1–20x10⁻⁵ errors/bp per cycle.

Applications

- Everyday research: standard PCR for targets up 5kb
- Generation of PCR fragments for TA cloning.
- DNA Labelling due to capacity to incorporate modified nucleotides.
- Sequencing.

Quality Control

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

Kit Components

Components	TBZ0201	TBZ0202
STOUT™ Taq DNA polymerase (5 U/μL)	100 μL	2x 100 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

Order Info Kit Components: STOUT™ PCR Buffer 10x (TBB0310) | MgCl₂ 25 mM (TBR0215).

Storage

Store at -20°C. Shipped in blue ice.

Unit Definition

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

Reagents necessary (not supplied)

- dNTPs mix 2.5 mM each (TBR0209)
- PCR Grade Water (TBB0303)
- PCR Tubes
- Primers

PROTOCOL

1. Thawing all components on ice. Vortex and spin 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
dNTPs Mix 8 mM TOTAL	0.8 mM	2 µL	5 µL
Forward Primer (15 pmol/ µL)	0.75 µM	1 µL	2.5 µL
Reverse Primer (15 pmol/ µL)	0.75 µM	1 µL	2.5 µL
STOUT™ Taq DNA polymerase (5 U/ µL)	0.05 UI/ 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 3.

3. Distribute the mix prepared in each PCR tube or well.
4. Add in each tube the DNA sample (plasmid DNA: 20-75 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	07:00
Conservation	1 x	4 °C	∞

STOUT™ Recombinant Taq DNA polymerase

Referencias

TBZ0201, 500 U (5 U/μL)

TBZ0202, 1000 U (5 U/μL)

Descripción

STOUT™ Recombinant Taq DNA polymerase is es una polimerasa termoestable de *Thermus aquaticus* producido en *Escherichia coli*. La enzima tiene un alta pureza y una fuerte actividad polimerasa 5'→3'. La enzima tiene débil actividad exonucleasa 5'→3' mientras que carece de actividad exonucleasa 3'→5'.

Todas las referencias incluyen Solución de MgCl₂ (25 mM) y STOUT™ PCR Buffer (10x) para mayor flexibilidad.

Características

- MW 94 kDa.
- 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 1–20x10⁻⁵ errores/pb por ciclo.

Aplicaciones

- PCR estándar para amplicones de hasta 5 kb.
- Generación de fragmentos de PCR para la clonación TA.
- Marcaje de ADN debido a su capacidad de incorporar nucleótidos modificados.
- Secuenciación.

Control de Calidad

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

Componentes

Componentes	TBZ0201	TBZ0202
STOUT™ Taq DNA polymerase (5 U/μL)	100 μL	2x 100 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

Referencias Componentes: STOUT™ PCR Buffer 10x (TBBo310) | MgCl₂ 25 mM (TBBo215).

Almacenaje

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

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.

Reactivos necesarios (no suministrados)

- Mezcla de dNTPs 2,5 mM cada uno (TBBo209)
- PCR Grade Water (TBBo303)
- 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
STOUT™ PCR Buffer 10x	1 x	2 µL	5 µL
MgCl ₂ 25 mM	2,5 mM	2 µL	5 µL
dNTPs Mix 8 mM TOTAL	0,8 mM	2 µL	5 µL
Forward Primer (15 pmol/ µL)	0,75 µM	1 µL	2,5 µL
Reverse Primer (15 pmol/ µL)	0,75 µM	1 µL	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 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: 10-75 ng; ADN genómico: 100-500 ng). Mezclar bien.
- 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	07:00
Conservación	1 x	4 °C	∞