

PCR (Polymerase Chain Reaction), oder Polymerase-Kettenreaktion, ist eine Technik für die spezifische Amplifikation einer DNA-Sequenz. Es ermöglicht, eine große Anzahl von Kopien einer spezifischen Sequenz aus einer kleinen Menge an DNA zu erhalten. Die PCR wird für eine große Anzahl von Anwendungen, wie Genotypisierung, Nachweis von Mikroorganismen oder klinische Diagnose verwendet.

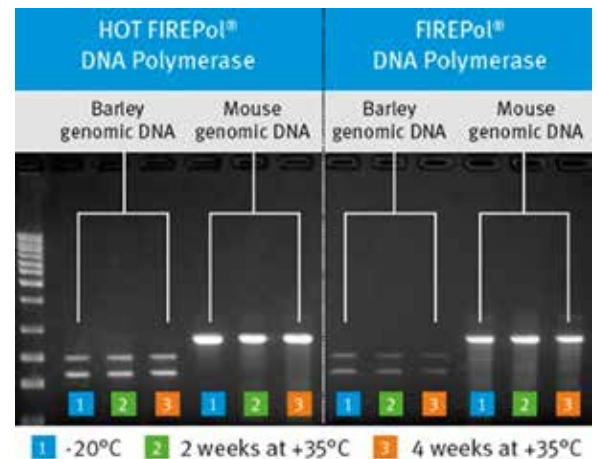
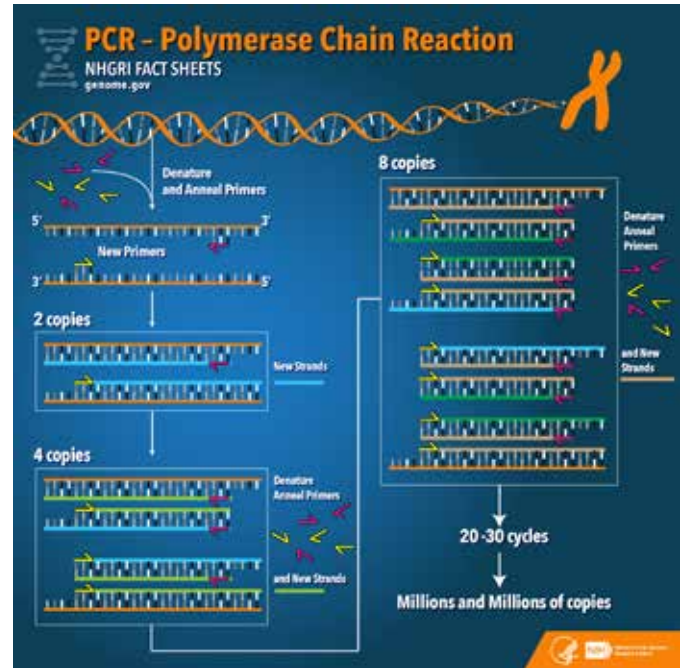
Um mehr darüber zu erfahren, wie es funktioniert, empfehlen wir das Video, das auf dem folgenden Link verfügbar ist.

➤ Diese Technik, die routinemäßig in vielen Laboratorien verwendet wird, erfordert verschiedene Reagenzien, die die Reaktionsmischung bilden:

- Ein Enzym katalysiert die Polymerisationsreaktion, DNA-Polymerase
- Nukleotide (dNTPs), Grundeinheiten der DNA (A, T, G und C)
- Magnesium, Co-Faktor, der für das Funktionieren des Enzyms notwendig ist
- Die zu amplifizierende DNA-Probe (Matrix)
- Molekularbiologie Wasserqualität, Lösungsmittel der Reaktion

Abhängig von den Besonderheiten der Probe können zusätzliche Additive wie BSA hinzugefügt werden (Protein-komplexierende Inhibitoren, die in bestimmten Proben vorhanden sind), oder auch DMSO, was eine bessere Amplifikation der Sequenzen ermöglicht, die reich an den Nukleotiden G und C sind.

Solis Biodyne bietet viele Varianten in Bezug auf Enzyme und Reaktionspuffer, bringt eine Lösung auf die überwiegende Mehrheit der gängigen Anwendungen. Im Gegensatz zu Konkurrenzprodukten sind alle ihre Enzyme und Reagenzien bis zu 1 Monat bei 42 °C stabil, wodurch die Herstellung der Reaktionsgemische bei Raumtemperatur ermöglicht wird.





FIREPOL Enzym:

Das Enzym FIREPOL ist eine DNA-Polymerase¹ ohne Exonukleaseaktivität² 3'→5', was es mit TA-Klonierungsexperimenten kompatibel macht. Dieses Enzym ist am sparsamsten und am besten geeignet für Routine-PCR, wobei unspezifische Amplifikationsphänomene kein Problem darstellen (z. B. Genotypisierung).

FIREPOL DNA-Polymerase ist in zwei Formaten erhältlich:

1 - "Kit" Format, mit separaten Komponenten, für Reaktionsmischung nach Wahl

- Enthält Enzym, zwei Reaktionspuffer (mit und ohne Tween-20), 25 mM MgCl₂ -Lösung und 10 x S-Lösung (Zusatz zur Erleichterung schwieriger Matrixamplifikation, z. B. GC-reiche Sequenzen).



Art. Nr.	Bezeichnung	Endkonzentration MgCl ₂	Anzahl Reakt.
755002	FIREpol® (Regular DNA Polymerase) 500 U	Wahlweise	200-400 Reaktionen 50 µl
755003	FIREpol® (Regular DNA Polymerase) 1000 U	Wahlweise	200-400 Reaktionen 50 µl
755004	FIREpol® (Regular DNA Polymerase) 2000 U	Wahlweise	200-400 Reaktionen 50 µl

2 - "MasterMix"-Format, sofort einsatzbereit

- Enthält das Enzym, einen 5X-Reaktionspuffer, eine 7,5 mM MgCl₂-Lösung und eine Lösung von dNTPs (jeweils 1 mM). Es fehlen nur noch die Primer, DNA und Wasser.
- Die Version "Ready to load" enthält einen Ladepuffer, um die PCR-Produkte direkt auf Gel aufzutragen (mit zwei Farbstoffen für die Migrationsüberwachung, blau (3,5-4,5 kb Positionierung) und gelb (35-45 Bp)).



Art. Nr.	Bezeichnung	Endkonzentration MgCl ₂	Anzahl Reakt.
755005	FIREpol® 5X Master MIX 7,5 mM 1 ml 250 RXNS	1,5 mM	250 Reaktionen 20 µl
755006	FIREpol® 5X Master MIX 12,5 mM 1 ml 250 RXNS	2,5 mM	250 Reaktionen 20 µl
755007	FIREpol® 5X Master MIX 7,5 mM Ready to load 1 ml 250 RXNS	1,5 mM	250 Reaktionen 20 µl
755008	FIREpol® 5X Master MIX 12,5 mM Ready to load 1 ml 250 RXNS	2,5 mM	250 Reaktionen 20 µl

Begriffe :

- 1 - Polymerase : Enzyme zur Synthese eines Polynucleotidstrangs (DNA oder RNA).
- 2 - Exonuklease : Enzyme mit der Fähigkeit, Nucleinsäuren am 3'-Ende eines Polynucleotidstrangs zu schneiden. DNA-Polymerasen, die keine 3'→5'-Exonukleaseaktivität aufweisen, fügen mit hoher Wahrscheinlichkeit ein Adenin am 3'-Ende der PCR-Produkte hinzu.
- 3 - TA Cloning : Klonierungstechnik, die keine Verwendung von Restriktionsenzymen erfordert. Es basiert auf der Selbstorganisation Vektoren mit einem freien Ende „T“ und Einsätzen mit einem freien Ende „A“, durch Basenkomplementarität.

HOT FIREPOL Enzym:

Das Enzym HOT FIREPOL ist eine DNA-Polymerase, die so modifiziert wurde, daß sie bei Raumtemperatur inaktiv ist. Vor der Aktivierung erfolgt keine Polymerisation durch Inkubation bei 95 ° C für 15 Minuten. Dies verhindert die Amplifikation von unspezifisch hybridisierten Primern und Dimeren, die bei der Herstellung der Reaktionsmischung bei Raumtemperatur gebildet werden. Es hat auch keine Exonukleaseaktivität 3' → 5', was es mit TA-Klonierungsexperimenten kompatibel macht. Es kann für viele Anwendungen verwendet werden, die eine höhere Spezifität erfordern, aber auch für Routine-PCR.

HOT FIREPOL Polymerase DNA ist in drei Formaten erhältlich:

1 - "Kit" Format, mit separaten Komponenten, für Reaktionsmischung nach Wahl

- Enthält Enzym, zwei Reaktionspuffer (mit und ohne Tween-20), 25 mM MgCl₂ -Lösung und 10 x S-Lösung (Zusatz zur Erleichterung schwieriger Matrixamplifikation, z. B. GC-reiche Sequenzen).

Art. Nr.	Bezeichnung	Endkonzentration MgCl ₂	Anzahl Reakt. 20 µl
755009	Hot FIREpol® (hot start DNA Polymerase) 500 U	Variabel	500 bis 1000
755010	Hot FIREpol® (hot start DNA Polymerase) 1000 U	Variabel	500 bis 1000



2 - "MasterMix"-Format, sofort einsatzbereit

- Enthält Enzym, 5X Reaktionspuffer, MgCl₂-Lösung, dNTPs-Lösung (jeweils 1 mM) und BSA-Lösung. Es fehlen nur die Primer, DNA und Wasser.
- Die Version "Ready to load" enthält einen Ladepuffer, um die PCR-Produkte direkt auf Gel aufzutragen (mit zwei Farbstoffen für die Migrationsüberwachung, blau (3,5-4,5 kb Positionierung) und gelb (35-45 Bp)).
- Die letzten beiden Referenzen "GC Master Mix" sind besonders für die Amplifikation von GC-reichen Sequenzen (bis zu 79%) geeignet. Enthält auch eine Lösung von 100% DMSO und 25 mM MgCl₂-Lösung zur Optimierung der Reaktionsmischung.



Bezeichnung	Endkonzentration MgCl ₂ (mM)	Anzahl Reakt. 20 µl	Standard	Ready To Load
			Art. Nr.	Art. Nr.
5X Hot FIREpol® Blend Master Mix 7,5 mM mit BSA 1 ml	1,5	250	755055	755011
5X Hot FIREpol® Blend Master Mix 10 mM mit BSA 1 ml	2	250	755056	755012
5X Hot FIREpol® Blend Master Mix 12,5 mM mit BSA 1 ml	2,5	250	755057	755013
5X Hot FIREpol® Blend Master Mix 15 mM mit BSA 1 ml	3	250	755058	755014
5X Hot FIREpol® Blend Master Mix 7,5 mM mit BSA 20 ml	1,5	5000	755059	755015
5X Hot FIREpol® Blend Master Mix 10 mM mit BSA 20 ml	2	5000	755060	755016
5X Hot FIREpol® Blend Master Mix 12,5 mM mit BSA 20 ml	2,5	5000	755081	755017
5X Hot FIREpol® Blend Master Mix 15 mM mit BSA 20 ml	3	5000	755062	755018
5X Hot FIREpol® Blend Master Mix 7,5 mM mit BSA 100 ml	1,5	25000	755063	755019
5X Hot FIREpol® Blend Master Mix 10 mM mit BSA 100 ml	2	25000	755064	755020
5X Hot FIREpol® Blend Master Mix 12,5 mM mit BSA 100 ml	2,5	25000	755065	755021
5X Hot FIREpol® Blend Master Mix 15 mM mit BSA 100 ml	3	25000	755066	755022
5X Hot FIREpol® GC Master MIX 1 ml	1,5 (regulierbar)	250	755076	-
5X Hot FIREpol® GC Master MIX 20 ml	1,5 (regulierbar)	5000	755077	-



3 - "MultiPlex"-Format

- Zur simultanen Amplifikation von bis zu 20 Zielen pro Reaktion.
- Enthält Enzym, 5X Reaktionspuffer, MgCl₂-Lösung, dNTPs-Lösung (jeweils 1 mM) und BSA-Lösung. Es fehlen nur die Primer, DNA und Wasser.
- Die Version "Ready to load" enthält einen Ladepuffer, um die PCR-Produkte direkt auf Gel aufzutragen (mit zwei Farbstoffen für die Migrationsüberwachung, blau (3,5-4,5 kb Positionierung) und gelb (35-45 Bp)).

Bezeichnung	Endkonzentration MgCl ₂ (mM)	Anzahl Reakt. 20 µl	Standard	Ready To Load
			Art. Nr.	Art. Nr.
Mix 5x HOT FIREPol MultiPlex 1 ml	2	250	755093	755091
Mix 5x HOT FIREPol MultiPlex 20 ml	2	5000	755094	755092

Begriffe :

- 1 - Polymerase : Enzyme zur Synthese eines Polynucleotidstrangs (DNA oder RNA).
- 2 - Exonuklease : Enzyme mit der Fähigkeit, Nukleinsäuren am 3'-Ende eines Polynucleotidstrangs zu schneiden. DNA-Polymerasen, die keine 3'→5'-Exonukleaseaktivität aufweisen, fügen mit hoher Wahrscheinlichkeit ein Adenin am 3'-Ende der PCR-Produkte hinzu.
- 3 - TA Cloning : Klonierungstechnik, die keine Verwendung von Restriktionsenzymen erfordert. Es basiert auf der Selbstorganisation Vektoren mit einem freien Ende „T“ und Einsätzen mit einem freien Ende „A“, durch Basenkomplementarität.