

Kit T-Plus ADN polimerasa SIEMBRA DIRECTA Highway (K1004)

PROTOCOLO

Componente	Volumen (μ L)	Concentración
Buffer reacción MINT 5x	10	1x
MgCl ₂ 25mM	3	1.5 mM
5 mM dNTP-mix <i>Highway</i>	2	200 μ M
Forward-Primer	variable	0.2 – 1 μ M
Reverse-Primer	variable	0.2 – 1 μ M
ADN Templado	variable	< 1 μ g
T-Plus ADN pol <i>Highway</i> (5 U/ μ l)	0.2 – 0.5	1 – 2.5 U
Agua calidad tipo I <i>Highway</i>	c.s.p. 50	
Volumen total	50	

IMPORTANTE:

El buffer MINT 5X contiene 2 colorantes que permiten la siembra directa en gel sin necesidad de agregar el buffer de siembra. El mismo no interfiere en la reacción de PCR.

TERMOCICLADO

Paso	Temperatura ($^{\circ}$ C)	Tiempo	Ciclos
Activación Inicial	94	2 min	1
Desnaturalización	94	15-30 seg	25 – 35
Annealing	45-68*	15-60 seg	25 – 35
Extensión	72	1 min/kb	25 – 35
Extensión Final	72	4 min	1

*: Aproximadamente 5 $^{\circ}$ C debajo de la T_m de los primers

ACLARACIÓN:

Las condiciones de reacción (temperaturas de incubación y tiempos, concentraciones del templado, primers, enzima y MgCl₂) dependen del templado y los primers empleados.