Сатып алынатын тауарлардың (жұмыстардың, көрсетілетін қызметтердің) техникалық ерекшелігі (әрбір лотқа жеке беріледі)

Тендер №:	№ 18005850-1
Тендер атауы:	Алматы қ. "Ұлттық биотехнология орталығы" ЖШС филиалының үшін химиялық реактивтер мен шығыс материалдарын сатып алу
Лоттың №:	№ 87314417-ЗЦПнеГ31
Лоттың атауы:	Полимераза

Бактериофаг T7 ДНҚ полимеразасының генетикалық түрлендірілген түрі, әсіресе Сангер секвенирлеу әдістерінде жоғары дәлдіктегі ДНҚ синтезіне арналған. Жабайы типтегі ферменттен айырмашылығы, бұл нұсқа 3'→5' экзонуклеаза белсенділігінен мүлдем айырылған, бұл нуклеотидтерді енгізудің дәлдігін және модификацияланған субстраттармен тиімді жұмыс істеуді қамтамасыз етеді. Фермент өте процессуалды, шаблонның екінші реттік құрылымдарына төзімді және тізбекті ығыстыру синтезіне қабілетті, бұл оны секвенирлеу және ДНҚ шаблонының деградациясының болмауы маңызды болатын басқа қолданбалар үшін әсіресе тиімді етеді. Фермент құрылымы Бұл екі суббірліктен тұратын ақуыз кешені: • T7 бактериофагының модификацияланған 5-ген ақуызы — ~76 кДа • E. coli тиоредоксин — ~12 кДа Генетикалық модификацияларға in vitro мутагенез арқылы жүзеге асырылатын 28 аминқышқылының делециясы кіреді, бұл полимераза функциясына әсер етпестен өлшенетін экзонуклеаза белсенділігінің толық жойылуына әкеледі. Физика-химиялық қасиеттері • Молекулалық салмақ: екі суббірліктің кешені (76 кДа + 12 кДа) • Оңтайлы pH: 7,5 • Оңтайлы температура: 37°C • Қажетті кофакторлар: Mg^{2+} немесе Mn^{2+} Функционалдық сипаттамалары • 3'→5' экзонуклеаза белсенділігі іс жүзінде жоқ • ДНҚ синтезінің жоғары процессивтілігі • Модификацияланған нуклеотидтерді (ddNTP, тио-dNTP, dITP аналогтары және т.б.) тиімді енгізу • Екінші реттік матрица құрылымдарына төзімділік • Тізбекті ығыстыру синтезіне қабілетті • Реттік реакциялардағы жоғары тиімділік Қолданылуы • Дидеокси терминациясы арқылы ДНҚ секвенирлеуі • Радиоактивті және флуоресцентті ДНҚ таңбалауы • Модификацияланған нуклеотидтермен ДНҚ синтезі • Генетикалық тізбекті талдау • Экзонуклеаза белсенділігінің болмауын талап ететін молекулалық биологиялық зерттеулер Тазалық және сапаны бақылау • Тазалық: >95% (SDS-PAGE) • Ластанулардың болмауын тексеру эндонуклеазалар (бір және екі тізбекті) • Экзонуклеаза белсенділігінің жоқтығын тексеру • Модельдік ДНҚ синтез реакцияларындағы функционалдық тексеру Сақтау буфері • 20 мМ калий фосфаты (pH 7,4) • 1 мМ DTT • 0,1 мМ EDTA • 50% глицерин Белсенділікті анықтау шарттары Реакция қоспасының (100 мкл) құрамында: • 40 мМ Tris-HCl (pH 7,5) • 10 мМ $MgCl_2$ • 5 мМ DTT • 0,3 мМ dNTP • 5 мкг M13mp18, 5 пмоль M13 әмбебап праймерімен алдын ала будандастырылған Ферментті алдын ала қыздырылған қоспаға қосқаннан кейін 37°C температурада 1 минут инкубациялаңыз. Белсенділік бірлігі Ферменттің бір бірлігі 37°C температурада 30 секунд ішінде 1 нмоль нуклеотидті қышқылда ерімейтін түрге енгізуді катализдейтін фермент мөлшері ретінде анықталады. Концентрациясы • 13 U/µL Қосымша компоненттер Жинақ құрамына мыналар кіреді: • Сұйылтуға арналған буфер (1 мл, PN 70765): 10 мМ Трис-HCl (pH 7.5) 5 мМ DTT 0.1 мМ ЭДТА Берілген түрі • Белсенділік: 1000 бірлік • Концентрациясы: 13 U/µL"

Техническая спецификация закупаемых товаров, работ и услуг к тендерной документации

№ Тендера:	№ 18005850-1
Наименование Тендера:	Закупки химических реактивов и расходных материалов для филиала ТОО "Национальный центр биотехнологии" в г. Алматы
№ лота:	№ 87314417-ЗЦПнеГ31
Наименование лота:	Полимераза

Генетически модифицированная форма ДНК-полимеразы бактериофага T7, предназначенная для высокоточного синтеза ДНК, особенно в методах секвенирования по Сэнгеру. В отличие от фермента дикого типа, данный вариант практически полностью лишён 3’→5’ экзонуклеазной активности, что обеспечивает повышенную точность включения нуклеотидов и эффективную работу с модифицированными субстратами. Фермент обладает высокой процессивностью, устойчивостью к вторичным структурам матрицы и способен осуществлять strand displacement синтез, что делает его особенно эффективным в задачах секвенирования и других приложениях, где критично отсутствие деградации ДНК-матрицы. Структура фермента Представляет собой двухсубъединичный белковый комплекс: • Модифицированный белок гена 5 бактериофага T7 — ~76 кДа • Тиоредоксин E. coli — ~12 кДа Генетические модификации включают делецию 28 аминокислот, выполненную методом in vitro мутагенеза, что приводит к полному устранению измеряемой экзонуклеазной активности без влияния на полимеразную функцию. Физико-химические свойства • Молекулярная масса: комплекс из двух субъединиц (76 кДа + 12 кДа) • Оптимальный pH: 7.5 • Оптимальная температура: 37°C • Требуемые кофакторы: Mg^{2+} или Mn^{2+} Функциональные характеристики • Практически полное отсутствие 3’→5’ экзонуклеазной активности • Высокая процессивность синтеза ДНК • Эффективное включение модифицированных нуклеотидов (ddNTP, thio-dNTP, analogs dITP и др.) • Устойчивость к вторичным структурам матрицы • Способность к strand displacement синтезу • Высокая эффективность в реакциях секвенирования Применение • Секвенирование ДНК методом дидезокси-терминации • Радиоактивное и флуоресцентное мечение ДНК • Синтез ДНК с модифицированными нуклеотидами • Анализ генетических последовательностей • Молекулярно-биологические исследования, требующие отсутствия экзонуклеазной активности Чистота и контроль качества • Степень чистоты: >95% (SDS-PAGE) • Проверка на отсутствие контаминирующих эндонуклеаз (одно- и двуцепочечных) • Проверка на отсутствие экзонуклеазной активности • Функциональное тестирование в модельных реакциях синтеза ДНК Буфер для хранения • 20 mM potassium phosphate (pH 7.4) • 1 mM DTT • 0.1 mM EDTA • 50% глицерин Условия определения активности Реакционная смесь (100 µL) содержит: • 40 mM Tris-HCl (pH 7.5) • 10 mM $MgCl_2$ • 5 mM DTT • 0.3 mM dNTPs • 5 µg M13mp18, предварительно гибридизированного с 5 pmol универсального праймера M13 Инкубация проводится при 37°C в течение 1 минуты после внесения фермента в предварительно прогретую смесь. Единица активности Одна единица фермента определяется как количество фермента, катализирующее включение 1 нмоль нуклеотида в кислотонерастворимую форму за 30 секунд при 37°C. Концентрация • 13 U/µL Дополнительные компоненты В комплект входит: • Dilution Buffer (1 mL, PN 70765): o 10 mM Tris-HCl (pH 7.5) o 5 mM DTT o 0.1 mM EDTA Форма поставки • Активность: 1000 Units • Концентрация: 13 U/µL