

Easy Taq DNA Polimerase (Recombinante)
Código Nº: 13-10500: 500 unidades
Concentração: 5,0 U/µL

Instruções de Uso

1. Descrição:

A enzima termoestável *Taq* DNA polimerase de *Thermus Aquaticus* é a forma recombinante da enzima expressa em *Escherichia coli*. Apresenta elevada processividade 5'→3', e uma atividade de exonuclease 5'-3', porém sem atividade exonuclease 3'→5'.

A *Taq* DNA polimerase mostra excelente atividade em pH 8,5 a 72°C, sendo estável na incubação em elevadas temperaturas (95°C).

A enzima é constituída por uma cadeia polipeptídica simples com peso molecular de aproximadamente 94 KDa.

2. Unidade Enzimática:

Uma unidade da *Taq* DNA Polimerase é definida como a quantidade necessária para incorporar 10nmoles de dNTPs em 30 minutos a 72°C, em condições de ensaio padrão.

3. Componentes:

- Enzima *Taq* DNA Polimerase,
- 10X Tampão de Reação (livre de íons Mg²⁺),
- 50mM de MgCl₂

4. Tampão de Armazenamento:

- 20 mM HEPES pH 7,9
- 100 mM KCl
- 0,1 mM EDTA
- 0,5 mM PMSF
- 1,0 mM DTT
- 50% glicerol

5. Tampão de Reação:

- 100 mM Tris HCl pH 8,5
- 500 mM KCl

6. Ensaio de Controle de Qualidade:

Atividade:

SDS-PAGE (pureza),

Espectrometria de massa (Figura 1),

OVER-DIGESTÃO: A incubação de 5U da *Taq* DNA Polimerase com 1 mg de DNA, em tampão de reação próprio durante 16 horas a 72°C, fornece um padrão de fragmentos de clivagem nítido, livre de DNA de *E.coli* [3].

PROTOCOLO BÁSICO DE AMPLIFICAÇÃO:

Componentes	Volume	Concentração final
10X Tampão de Reação (livre de Mg ²⁺)	5µL	1X
dNTP mix (10 mM)	1µL	0,2 mM cada
MgCl ₂ (50 mM)	1,5µL	1,5 mM
Mix de primers (10 mM cada)	2,5µL	0,5 µM cada
DNA	0,5 – 10µL	-----
Taq DNA polimerase (5U/µL)	0,5µL	2,5U
Água livre de RNase q.s.p.	50µL	-----

- A** - Utilizar microtubos estéreis de 0,2 – 0,5 mL. Os tubos devem permanecer dentro de gelo. Detalhes sobre parâmetros críticos e informações adicionais podem ser encontrados na referência [1]. Para obter um excelente rendimento na amplificação de fragmentos de DNA é aconselhável a utilização de um kit de pipetas exclusivas, ponteiras com barreira e ambiente livre de contaminação. O protocolo sugerido serve como um guia geral e ponto inicial de protocolos de amplificação de DNA.
- B** - Homogeneizar a mistura, através de rápida centrifugação (*Fast-spin*),
- C** - Incubar em termo bloco a 94°C por 3-5 min, para desnaturar o DNA,
- D** - Proceder com 20 - 35 ciclos de amplificação: desnaturação a 94°C por 45 s; Anelamento a 55°C [**] por 30 s e extensão a 72°C por 1 min. Adicionalmente uma etapa de extensão a 72°C por 10 min é recomendada.
- Manter a 4°C até a análise.
- E** - Analisar os produtos obtidos através de eletroforese em géis de agarose ou poliacrilamida, corando com brometo de etídeo e visualizando em luz ultravioleta.

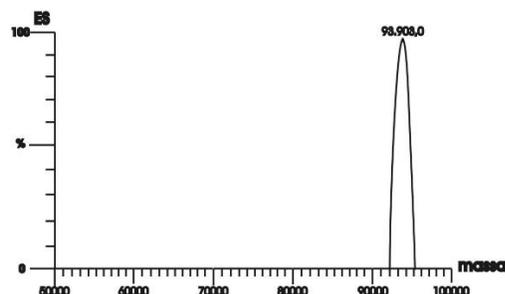


Figura 1. A deconvolução da espectrometria de massa da *Taq* DNA Polimerase revela com precisão o valor da massa molecular da enzima (93.903 kDa) quando comparado com o valor teórico, baseado em dados da seqüência primária da enzima. Adicionalmente, o pico foi muito homogêneo (*) revelando o grau de pureza da preparação da enzima *Taq* Polimerase

7. Garantia da Qualidade

A **NOVA BIOTECNOLOGIA** fornece garantia do produto **Easy Taq DNA Polimerase** por ela fornecida contra defeitos de produção pelo período de validade do produto, salvo especificações em contrário a constar da proposta.

- A garantia abrange defeitos de produção.

Exceções na garantia:

- Todos os produtos com defeitos oriundos de mau uso, imperícia, conservação ou armazenagem inadequada.
- Quando não for utilizado de acordo com sua finalidade de aplicação.

8. Informações do Fabricante

NOVA BIOTECNOLOGIA LTDA

R. PASADENA, 235 - PARQUE INDUSTRIAL SAN JOSE

CEP: 06.715-864 - COTIA/SP - BRASIL

CNPJ: 24.096.423/0001-15

RESPONSÁVEL TÉCNICA

Dra. ELIZABETH CORTEZ HERRERA- CRBM 20.951/1

9. Atendimento ao Consumidor

Tel. +55 (11) 4243-2356

www.novabiotecnologia.com.br

e-mail: assessoria@novabiotecnologia.com.br