

Easy Taq DNA Polimerase
13-10500 - 500 unidades - 5,0 U/ μ L

Ficha de 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 Mg^{2+}),
- 50mM de $MgCl_2$

4. Armazenamento e transporte:

Temperatura: - 20°C

Não armazenar em geladeira com sistema *frost-free*.

5. 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

6. Tampão de Reação:

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

7. Ensaio de Controle de Qualidade:

Atividade:

SDS-PAGE (pureza),

Espectrometria de massa (Figura 1),

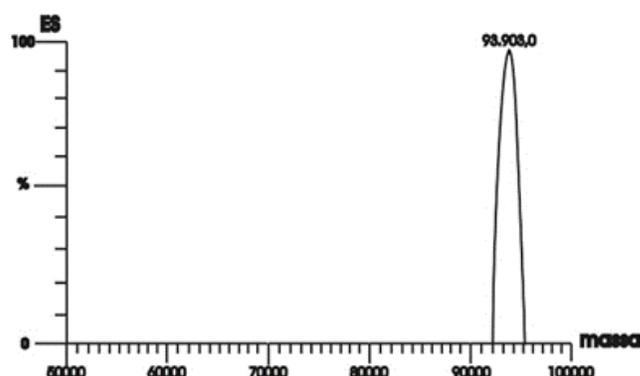


Figura 1. A deconvolução da espectrometria de massa da *Taq* DNA Polimerase revela com precisão o valor da massa molecular da enzima (93.903 kDa) quando comparado com o valor teórico, baseado em dados da seqüência primária da enzima. Adicionalmente, o pico foi muito homogêneo (*) revelando o grau de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

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 <i>primers</i> (10 mM cada) | 2,5µL | 0,5 µM cada |
| DNA | 0,5 – 10µL | ----- |
| <i>Taq</i> 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 ou com *blue green loading dye I* e visualizando em luz ultravioleta.

8. 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.

9. 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 TÉCNICO

Dra. ELIZABETH CORTEZ HERRERA - CRBM 20951

10. Atendimento ao Consumidor

Tel. +55 (11) 4243-2356

www.novabiotecnologia.com.br

e-mail: assessoria@novabiotecnologia.com.br sac@novabiotecnologia.com.br