

**Hot Start Taq DNA Polimerase**  
**13-10501-05 – 5,0 U/ $\mu$ L - 500U**  
**Ficha de Instruções de Uso**

## 1. Uso pretendido

*Hot Start Taq* DNA Polimerase é uma mistura de Taq DNA polimerase e um aptâmero inibidor, especialmente desenhado para este propósito. O inibidor se liga reversivelmente à enzima, para inibir a atividade da Polimerase em temperaturas inferiores a 45°C, mas libera a enzima e a deixa ativa durante as condições normais de ciclagem durante a PCR. Deste modo é possível trabalhar o preparo das reações na bancada sem maiores cuidados com a temperatura (temperatura ambiente). Este início em elevadas temperaturas baseado na atividade do aptâmero não requerem uma etapa adicional de incubação para ativação da enzima.

A *Hot-Start Taq* DNA Polimerase possui atividade 5' → 3' (1) (2) (3) e uma atividade adicional de endonuclease 5' (4) (5).

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

## 2. Características do produto

### Componentes

- Hot Start *Taq* DNA Polimerase (500 unidades) (1 tubo com 100 $\mu$ L)
- 10X Tampão de amplificação (livre de Mg<sup>2+</sup>) (2 tubos com 1,000 mL)
- 50 mM de MgCl<sub>2</sub> (1 tubo com 1,250 mL)

### Tampão De Armazenamento

- 10 mM Tris-HCl
- 100 mM KCl
- 0,1 mM EDTA
- 1,0 mM DTT
- 50% glicerol

### Tampão De Reação (10x)

- 100 mM TrisHCl pH 8,5
- 500 mM KCl

### Unidade enzimática

Uma unidade da *Taq* DNA Polimerase é definida como a quantidade necessária para incorporar 15 nmoles de dNTPs em 30 minutos a 75°C, em condições de ensaio padrão.

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

### 3. Armazenamento

-20°C

### 4. Validade

24 meses a partir da data de fabricação

### 5. Informação de Segurança

- 5.1 Deve ser utilizado somente por pessoal técnico qualificado e devidamente treinado.
- 5.2 Todo pessoal envolvido na execução do ensaio deve utilizar equipamentos de biossegurança, como recomendado pela legislação em vigor.
- 5.3 O ambiente do laboratório deve ser controlado, a fim de evitar contaminantes como poeira ou agentes microbianos transportados pelo ar.
- 5.4 Após o recebimento do produto, verificar se a embalagem está danificada ou se há vazamento dos líquidos. Proteger-se adequadamente e caso seja necessário realizar a reclamação ao SAC.
- 5.5 Não utilizar componentes danificados, pois eles podem gerar baixo rendimento.
- 5.6 Não utilizar o produto após a data de validade apresentada na etiqueta externa.
- 5.7 Armazenar os componentes e plásticos em condições próprias para uso em laboratório.
- 5.8 Para minimizar risco de contaminações é recomendado trabalhar em cabine de fluxo laminar. Caso sejam necessárias mais informações a respeito do produto, favor entrar em contato com a **NOVA BIOTECNOLOGIA**.

### 6. Procedimento

- a) Utilizar microtubos estéreis de 0,2 – 0,5 mL.

Detalhes sobre parâmetros críticos e informações adicionais podem ser encontrados na referência [6]. 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 2 minutos, 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

## 7. GARANTIA DA QUALIDADE

A **NOVA BIOTECNOLOGIA** fornece garantia do produto por ela fornecido 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: 06715-864 - COTIA/SP - BRASIL

CNPJ: 24.096.423/0001-15

**RESPONSÁVEL TÉCNICO**

Dra. ELIZABETH CORTEZ HERRERA - CRBM 20951

## 9. ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Tel. +55 (11) 4243-2356

[www.novabiotecnologia.com.br](http://www.novabiotecnologia.com.br)

e-mail: [assessoria@novabiotecnologia.com.br](mailto:assessoria@novabiotecnologia.com.br) [sac@novabiotecnologia.com.br](mailto:sac@novabiotecnologia.com.br)