

Descrição

A Taq DNA polimerase (Taq pol) recombinante, estabilizada em tampão (aspecto físico líquido) é uma enzima termoestável. Frasco com 500 unidades e volume de 100 µl equivalente a 5.000 unidades por ml (5u/µl). Acompanhado de tampão para reação 10x sem MgCl₂ e solução separada de 50mM de MgCl₂. A enzima Taq pol, possui a característica de adicionar um resíduo de adenina no final de cada fita sintetizada. É uma enzima robusta, comumente usada na PCR. Sua ação é influenciada pela concentração de MgCl₂, tipo de tampão utilizado, quantidade de enzima, entre outros fatores. O alto grau de qualidade da enzima Taq PHT é atribuído a um sofisticado sistema de produção e um rigoroso controle de qualidade envolvendo testes de estabilidade e ensaios funcionais.

A Phoneutria Biotecnologia e Serviços (PHT) oferece uma variedade de tampões e Master Mix para facilitar a calibração da sua reação.

O tampão IO (10x) faz parte desse kit e fornece MgCl₂ separado para uma melhor padronização da sua reação. Atenção, o tampão IO (10x) **NÃO POSSUI dNTP**.

Apresentação

- Um frasco de 100µl de Taq DNA polimerase 500 unidades (5u/µl). (código: Z1)
- Um frasco de 1500µl de Tampão IO 10X (sem dNTP). (código: Z1.0)
- Um frasco de 1000 µl de MgCl₂ 50mM. (código: Z1.1)

Tipo de produto final: DNA amplificado (amplicon, produto de PCR).

No. de Reações: 500 reações de 20 microlitros cada utilizando 1 unidade de Taq pol (0,2 µl de enzima) por reação.

Tipo de amostra: DNA ou cDNA purificado.

Técnica: PCR - Reação em Cadeia da Polimerase – Polymerase Chain Reaction.

Condições de armazenamento e transporte

- A **Taq DNA polimerase da pht** pode ser transportada a **4°C ±2°C**. Manter ao abrigo da luz e umidade.

- **A temperatura de armazenamento deve ser de -20°C**

Medida de segurança

Atenção! recomenda-se ao manusear este produto utilizar os EPI's de acordo com o nível de biossegurança exigido para a amostra a ser manipulada. Recomendações básicas: jaleco, luvas de procedimento, máscara N95 ou cirúrgicas, óculos de proteção e avental de mangas longas.

Para obtenção de informações referentes à biossegurança e ações em casos de acidentes com o produto, consultar a FISPQ (Ficha de Segurança de Produto Químico) disponíveis no SAC (Serviço de Assistência ao Cliente) da Phoneutria Biotecnologia e Serviços através do e-mail **pht@phoneutria.com.br** ou pelo telefone **+55 31 99585-3050** ou **+55 31 3427-6413**.

Protocolo - PCR

Use luvas, máscara, avental e touca durante todo processo. Sempre use ponteiras e microtubos novos. Certifique-se que a bancada esteja limpa antes de iniciar sua PCR.

1. Retire do freezer os reagentes: Tampão IO 10X; MgCl₂ 50mM; Taq DNA pol; Água Ultra Pura livre de DNase (não fornecida); Primers (não fornecidos); dNTP (não fornecido); DNA molde (não fornecido). Após descongelar, homogeneizar os reagentes no vórtex e em seguida centrifugar rapidamente (spin) para concentrar todo o volume no fundo do tubo. **Não é necessário homogeneizar a Taq DNA pol.**

OBS: Mantenha todos reagentes no gelo.

2. Prepare uma reação como indicado abaixo. Nesse exemplo, utilizamos o volume final de 20 µl. Outros volumes podem ser utilizados, faça alterações mantendo a concentração do Tampão IO em **1X** em relação ao volume final da reação.

| Reagente | Volume |
|------------------------------------|-------------------------------|
| Tampão IO 10X | 2 µl |
| MgCl ₂ 50mM | 0,4 µl - 1,4 µl |
| dNTP 2 milimolar (2 mM) | 2 µl (use 0,2 mM) |
| Primer Foward (primer senso) | 1-2 µl (use de 3 a 10 pmol) |
| Primer reverse (primer anti-senso) | 1-2 µl (use de 3 a 10 pmol) |
| DNA ou cDNA molde purificado | 1 - 10 µl |
| Enzima Taq DNA pol | 0,2 µL (uma unidade) |
| Água ultrapura livre de DNase | Completar o volume para 20 µL |
| Volume Final 20 µl | |

*Sugestão: Utilize um ou mais controles negativos sem adição do DNA molde.

3. Utilize o programa de ciclagem com as temperaturas e tempos de desnaturação, anelamento e extensão bem como o número de ciclos padronizados para sua reação.

Exemplo de ciclagem para PCR.

A ciclagem pode ser adaptada para sua reação, entretanto recomendamos manter a temperatura de extensão a 72°C.

| Temperatura | Tempo | Observação |
|-------------|-------|---|
| 95 °C | 3 min | O primeiro passo de desnaturação deve ter um tempo e temperatura maior para garantir a abertura das fitas de DNA. |
| 92 °C | 45 s | Segundo passo de desnaturação. |
| 50-60 °C | 30 s | Repetir Anelamento dos primers no DNA alvo. |
| 72 °C | 30 s | 30 x Extensão com ação da Taq DNA pol. |
| 72 °C | 5 min | Tempo extra de extensão para finalizar a formação completa dos amplicons. |
| 4- 15 °C | ∞ | Para aguardar a retirada da reação do termociclador |

ATENÇÃO: Se for necessário, ajuste a temperatura de anelamento de acordo com as características específicas dos primers. Os tempos indicados e número de ciclos também podem ser alterados. Faça os testes e encontre a melhor ciclagem para sua PCR.

ATENÇÃO: Amostras não preservadas e/ou armazenadas de forma inadequada podem conter DNA biológico degradado podendo prejudicar sua análise. Além do mais, amostras com alto grau de contaminantes e que não foram previamente purificadas adequadamente podem comprometer a qualidade do resultado.

ATENÇÃO: INFLUÊNCIAS Pré-analíticas (Químicas, Físicas e Biológicas): Aquecimento excessivo ou descongelamentos constantes podem afetar a qualidade dos reagentes. Evite descongelamentos fazendo alíquotas do seu reagente.

ATENÇÃO: Evite contaminação. Não manipule o produto de PCR (amplicon) na mesma área onde sua PCR é montada ou seu DNA alvo é purificado.

Dúvidas? Ligue ou mande uma mensagem para o nosso setor técnico.



Email: pht@phoneutria.com.br

(31) 99585-3050

Visite o nosso site:

