

Descrição

A Taq DNA polimerase recombinante, estabilizada em tampão, é uma enzima termoestável e robusta, comumente usada na PCR. Sua ação é influenciada pela concentração de $MgCl_2$, pela quantidade de enzima, pelo tipo de tampão utilizado, entre outros fatores. O alto grau de qualidade da enzima Taq DNA polimerase IC *pht* é atribuído a um sofisticado sistema de produção e a um rigoroso controle de qualidade com testes de estabilidade e ensaios funcionais. A **Taq DNA polimerase IC *pht*** possui 500 unidades em um volume de 100 μL , equivalente a uma concentração de 5.000 unidades por mL [5u/ μL], e acompanha o Tampão IC (10X) que fornece uma concentração final (1X) de 2 mM de $MgCl_2$. Atenção! O Tampão IC (10X) não possui dNTP.

Apresentação

Composição	Código
Taq DNA polimerase (5u/ μL)	Z1
Tampão IC (10X)	Z1.C

Condições de armazenamento e transporte

- A **Taq DNA polimerase IC** da pht pode ser transportada refrigerada em gelo gel ou em temperaturas inferiores. Manter ao abrigo da luz e umidade.
- A **temperatura de armazenamento deve ser de -20 °C**.

Medida de segurança

Para informações sobre biossegurança e orientações em casos de acidentes com o produto, consulte a Ficha de Dados de Segurança (FDS), disponível por meio do Serviço de Atendimento ao Consumidor (SAC) da Phoneutria Biotecnologia e Serviços. O contato pode ser feito pelo e-mail **pht@phoneutria.com.br** ou pelos telefones **(31) 99585-3050** e **(31) 3427-6413**.

Protocolo - PCR

1. 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 IC em **1X** em relação ao volume final da reação.

Reagente	Volume
Tampão IC (10X)	2 μL
dNTP (2 mM)*	2 μL (use 0,2 mM)
Primer Forward (Concentração de 5 a 10 μM)*	1 μL
Primer Reverse (Concentração de 5 a 10 μM)*	1 μL
DNA ou cDNA molde purificado*	1 - 10 μL
Taq DNA polimerase - (5u/ μL)	0,2 μL (uma unidade)
Água ultrapura*	Completar o volume para 20 μL
Volume final = 20 μL	

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

*dNTP, primers, DNA molde e água ultrapura não são fornecidos no kit.

2. 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 de 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	30 s	Repetir 30-35 x	Segundo passo de desnaturação.
50-63 °C	30 s		Anelamento dos primers no DNA alvo.
72 °C	30 s		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.

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

-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.

-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.



E-mail: pht@phoneutria.com.br

(31) 99585-3050

Visite o nosso site:

