

### 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 4B 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 *pht* é fornecida em frasco com 500 unidades e volume de 100  $\mu L$ , equivalente a 5.000 unidades por mL [ $5u/\mu L$ ], e acompanha o tampão para reação 5X com  $MgCl_2$  (Hot Start Buffer 4B 5X). O Hot Start Buffer 4B (5X) propicia a característica *hot start* à reação, sem a necessidade de anticorpos.

Atenção! O Hot Start Buffer 4B (5X) não possui dNTP.

### Apresentação

Composição	Código
Taq DNA polimerase ( $5u/\mu L$ )	Z1
Hot Start Buffer 4B (5X)	Z1.4B

### Condições de armazenamento e transporte

- A **Taq DNA polimerase** 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  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ .**

### 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

**OBS:** Mantenha todos os reagentes no gelo. O Tampão Hot Start 4B (5X) possui um precipitado insolúvel; homogenize bem antes de usar. O material insolúvel deve estar totalmente ressuspensionado antes do uso em suas reações.

1. Prepare uma reação como indicado abaixo. Nesse exemplo, utilizamos o volume final de 20  $\mu L$ . Outros volumes podem ser utilizados, faça alterações mantendo concentração do Hot Start Buffer 4B em **1X** em relação ao volume final da reação.

## Taq DNA polimerase 4B Hot Start Buffer

Cód: KZ1.4B  
Versão: 2/2024

Reagente	Volume
Hot Start Buffer 4B (5X) – <b>homogenize bem!</b>	4 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 – 9,8 µL
Taq DNA polimerase - (5u/µL)	0,2 µL (uma unidade)
Água ultrapura*	Completar o volume para 20 µL
<b>Volume final = 20 µL</b>	

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

\*dNTP, primers, DNA molde e água ultrapura não são fornecidos neste kit.

- 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.

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.

-Email: [pht@phoneutria.com.br](mailto:pht@phoneutria.com.br)

 **(31) 99585-3050**

**Visite o nosso site:**

