



Taq DNA Polimerasa

Cat. Nº: 719210: 500 unidades

Descripción: La *Taq* DNA Polimerasa es una enzima termoestable de aproximadamente 94 kDa, aislada de la eubacteria *Thermus aquaticus*, cepa YT-1 (1). Esta enzima replica el DNA a 72 ° C. La enzima cataliza la polimerización de nucleótidos en DNA de doble hebra en dirección 5' → 3', en presencia de iones de magnesio, y muestra actividad exonucleasa 5' → 3'. La enzima está altamente purificada y libre de exonucleasas endonucleasas o nucleasas inespecíficas. La *Taq* DNA polimerasa deja extremos libres 3' dA en sus productos de reacción.

Pruebas de rendimiento y pureza: La *Taq* DNA polimerasa realiza efectivamente un PCR con DNA de hasta 5 kb de longitud. La enzima fue probada por la ausencia de actividades endonucleasa y nickase. No se detectan rastros de DNA bacteriano en la reacción de PCR con los partidores complementarios a la región conservadora del gen ribosomal 16S.

Las siguientes pruebas se realizan con cada lote de *Taq* DNA polimerasa:

- PCR con varios moldes – DNA genómico humano y bovino, fago Lambda DNA.
- Pruebas de contaminación con exo-endo-nucleasas.
- Prueba "sin partidores" de DNA Lambda.
- Prueba "ausencia de DNA molde" con los partidores complementarios a la región conservadora de genes ribosomales bacterianos 16S.
- Prueba de almacenaje (3 días a temperatura ambiente) – ningún cambio en su funcionamiento.

Concentración: 5 unidades/ μ l

Aplicaciones: DFS-*Taq* DNA polimerasa es conveniente para todas las aplicaciones regulares del PCR, extensión de partidor, etc.. La *Taq* DNA polimerasa está libre de DNA bacteriano, y por lo tanto, es apropiada para el trabajo con DNA bacteriano.

Sensibilidad: Las reacciones de PCR con *Taq* DNA polimerasa en condiciones óptimas son de alta sensibilidad (en algunos casos sólo son necesarias al menos 6 moléculas de DNA para la detección). La enzima tiene un muy buen rendimiento en PCR de genes de una copia del DNA genómico de mamífero. En contraste con la enzima BIORON-Winkler, las *Taq* DNA polimerasas, de una variedad de proveedores, contienen DNA contaminante. Con DNA contaminado, la *Taq* DNA polimerasa puede dar resultados de falsos positivos en algunos casos.

Definición de la unidad: Una unidad de actividad se define como la cantidad de enzima necesaria para incorporar 10 nmol de dNTP a un fragmento de DNA, como ácido insoluble, en 30 minutos a 72 ° C.

Buffer de reacción (10x) "incompleto": 160 mM (NH₄)₂SO₄, 670 mM Tris-HCl pH 8.8, 0,1% Tween 20.

Buffer de reacción (10x) "completo": 160 mM (NH₄)₂SO₄, 670 mM Tris-HCl pH 8.8, 0,1% Tween-20, 25 mM MgCl₂.

Buffer de reacción (10x) "completo II KCl": 500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl pH 8.8, 0,1% Tween-20, 15 mM MgCl₂.

Solución de MgCl₂ 100 mM.

Concentración recomendada de MgCl₂: 1,5 mM - 6 mM.

Buffer de almacenamiento: 10mM Fosfato de Potasio, pH 7,4, 0,1 mM EDTA, glicerol 50%, 0,1% Tritón X-100, 0,1% Tween-20.

Condiciones de almacenamiento: -20 ° C.

Fabricante y País de Origen: BIORON GmbH, Rheinhorststr.18-67071, Ludwigshafen (Alemania):
www.bioron.net.



Protocolo de Uso:

Esquema de pipeteo y protocolo del termociclador:

Componentes	Volumen / 50 µl de Reacción	Concentración Final
Buffer PCR 10x	5 µl	1 x
Mezcla de dNTPs (40 mM)	1 µl	800 µM (200 µM cada uno)
Partidor 5'	variable	0.1 -0.5 µM
Partidor 3'	variable	0.1 -0.5 µM
Taq DNA Polymerase	0.25 -1.0 µl	1.25 -5.0 unidades
DNA Molde	variable	10 to 500 ng/reacción
Agua destilada estéril	Ajustar a 50 µl de volume final	

Se puede usar separadamente la solución de MgCl₂, al usar el buffer incompleto, o si usted quiere titular la concentración óptima de MgCl₂ para obtener resultados óptimos en el PCR.

Conc. Final de MgCl₂ (mM)	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5	5.5	6
Volumen en µl de 100 mM MgCl₂ por 50 µl de reacción	0.75	1	1.25	1.5	1.75	2	2.25	2.5	2.75	3

Protocolo del Termociclador

Paso	Tiempo	Temperatura
Desnaturalización Inicial	2 minutos	94 °C
30 ciclos:		
Desnaturalización	10 segundos	94 °C
Hidridación	20 segundos	55 -68 °C *
Extensión	1 minuto	72 °C

* Usualmente la temperatura óptima de hibridación es 5 °C por debajo de la temperatura de fusión de los partidores.

Notas: Programar el Termociclador según las instrucciones del fabricante. Cada programa debe comenzar con una desnaturalización inicial a 94 ° C por 2 a 5 min. El tiempo de extensión recomendado es 1 min por 1 kb de DNA a sintetizar. Para un máximo rendimiento y especificidad, las temperaturas de hibridación y los tiempos de los ciclos deben optimizarse para cada nuevo DNA molde y/o par de partidores.

Referencia: 1. Kaledin, A.S., Sliusarenko, A.G. and Gorodetskii, S.I. (1980) Biokhimiya **45**, 644.