

## BioTaqCell Flash HS Taq DNA Polimerase

V.01

Cód.: TAQ003-S (250 U)

TAQ003-M (500 U)

TAQ003-L (1000 U)

Componente	TAQ003-S 250 U	TAQ003-M 500 U	TAQ003-L 2 x 500 U
10 X Flash HS Taq Buffer - Green Cap	500 µL	1000 µL	2 x 1000 µL
Flash HS Taq DNA Polimerase (5 U/µL) - Clear Cap	50 µL	100 µL	2 x 100 µL

**Concentração:** 5 U/µL

**Apenas para uso em pesquisa.**

### Armazenamento:

Armazenar entre -25°C e -15°C. Evitar ciclos de congelamento e descongelamento.

**Nota:** O tampão 10 X Flash HS Taq Buffer contém 15 mM de íons magnésio.

**Especificações:** Flash HS Taq DNA Polimerase é uma mistura de um anticorpo monoclonal anti-Taq e uma Hot Start Taq DNA Polimerase. Ao usar anticorpo para a enzima Taq, a ligação do anticorpo à enzima inibe a atividade de polimerase antes da desnaturação em alta temperatura, o que pode efetivamente inibir o anelamento inespecífico de primers e amplificação inespecífica causada por dímeros de primers formados sob condições de baixa temperatura. O anticorpo da enzima Taq é neutro na etapa inicial de desnaturação do DNA da reação de PCR, e a atividade da DNA polimerase é restaurada para obter o efeito Hot Start. O uso deste produto não requer inativação especial do anticorpo da enzima Taq, e pode ser usado sob condições de reação de PCR convencional.

Flash HS Taq DNA Polimerase tem atividade de DNA polimerase 5' → 3' e atividade de exonuclease 5' → 3', mas nenhuma atividade de exonuclease 3' → 5'. A velocidade de extensão da enzima é de 2 kb/min e pode amplificar fragmentos de até 5 kb. O produto de PCR amplificado tem uma base "A" anexada à extremidade 3', portanto pode ser usada diretamente para clonagem T/A.

**Esse produto apresenta características de velocidade de extensão rápida e alta eficiência de amplificação (número reduzido de ciclos).**

**Definição de Unidade (U):** Uma unidade de Taq polimerase (U) é definida como a quantidade de enzima necessária para catalisar a incorporação de 10 nmols de desoxirribonucleotídeos (dNTPs) em um fragmento de DNA em 30 minutos a 74°C.

**Instruções:** O exemplo a seguir de um sistema PCR contém as condições de reação para amplificar um fragmento de 1 kb usando DNA genômico humano como modelo. Na operação real, melhorias e otimizações devem ser realizadas de acordo com o modelo, estrutura de primers e tamanho de fragmento alvo.

## 1. Preparo da reação

Componentes	Volume	Concentração Final
ddH <sub>2</sub> O	q.s.p. 50 µl	-
10X <b>Flash HS</b> Taq <i>Buffer</i>	5 µl	1x
dNTP <i>Mix</i> (10 mM cada)	1 µl	0.2 mM
DNA <i>template</i>	-	< 0.5 µg / reação
<i>Forward primer</i> (10 µM)	2 µL	0.4 µM
<i>Reverse primer</i> (10 µM)	2 µL	0.4 µM
<b>BioTaqCell Flash HS</b> Taq DNA Polimerase (5 U/uL)	0.25 - 0.5 µL	1.25 - 2.5 U

**Nota:** O mix de reação pode ser preparado à temperatura ambiente e os reagentes devem ser mantidos no gelo.

## 2. Protocolo

Fase	Temperatura	Tempo	Ciclos
Pre-desnaturação	94°C	2 min	1
Desnaturação	94°C	30 seg	} 25 - 35
Anelamento	55 – 65°C	30 seg	
Extensão	72°C	30 seg	
Extensão Final	72°C	2 min	1

## 3. Observações:

- 1) Em experimentos gerais, a temperatura de anelamento é 5°C menor que a temperatura de melting (T<sub>m</sub>) do primer de amplificação, e quando a eficiência de amplificação ideal não puder ser obtida, a temperatura de anelamento deve ser reduzida adequadamente.
- 2) O tempo de extensão deve ser ajustado de acordo com o tamanho do fragmento amplificado.
- 3) O número de ciclos pode ser definido de acordo com a aplicação dos produtos de PCR posterior à amplificação. Se o número de ciclos for muito pequeno, a quantidade de amplificação será insuficiente; se o número de ciclos for muito grande, a probabilidade de ocorrência de amplificação inespecífica aumentará. Portanto, o número de ciclos deve ser minimizado com a premissa de garantir o rendimento do produto.