



Taq DNA polimerase (*Taq*), enzima altamente termoestável é obtida da bactéria termofílica *Thermus aquaticus*. Pode resistir à incubação prolongada a temperaturas de até 95°C sem perda significativa de atividade. Catalisa a síntese de DNA e possui atividade exonuclease na direção 5' → 3'.

A Taq DNA polimerase recombinante expressa em *E. coli* apresenta características idênticas às da Taq nativa da *T. aquaticus* no que diz respeito a atividade, especificidade, termoestabilidade e desempenho em reação em cadeia da polimerase (PCR). Para reação completa ela exige um molde de DNA, um par de iniciadores, as bases nucleotídicas e o íon Mg⁺⁺. A Taq é fornecida juntamente com um frasco contendo 2 mL de tampão de reação 10X (Tris-HCl 75 mM pH 9,0 contendo KCl 50 mM e (NH₄)₂SO₄ 20 mM) e um frasco contendo 1 mL de MgCl₂ 50 mM. A enzima está armazenada em tampão Tris-HCl 50 mM pH 7,9 contendo NaCl 40 mM, EDTA 0,4 mM, DTT 100 mM, Triton-X100 4% (v/v) e glicerol 50% (v/v). Uma unidade de enzima é definida como a quantidade que incorpora 10 nmoles de dNTPs em 30 minutos a 72°C.

Aplicações

Amplificação de fragmentos de DNA em PCR de rotina;
Geração de produtos de PCR para clonagem, sequenciamento e caracterização de DNA.

Estabilidade

Taq DNA polimerase é estável por 12 meses. Armazenar a -20°C e evitar alterações prolongadas e frequentes de temperatura.

Protocolo de aplicação

Para o preparo de diversas reações simultâneas e para minimizar possíveis erros de pipetagem recomenda-se o preparo de um *master mix* contendo em sua composição água deionizada e esterilizada, tampão de PCR, dNTPs, oligonucleotídeos, cloreto de magnésio e Taq. Por segurança aconselha-se o preparo de volume de *master mix* suficiente para pipetagem de pelo menos um tubo de reação a mais que o necessário para as amostras em estudo. A tabela abaixo exemplifica *mix* para ensaio de 10 amostras, sendo o volume final de reação de 50 µL. Após preparo do *mix* pipetar, em cada um dos tubos, o volume necessário para reação, neste exemplo 49 µL, e então adicione 1 µL da amostra molde de DNA. Agite o volume dos tubos para misturar os constituintes e leve para a PCR. O volume de amostra molde pode variar dependendo da amostra e nesse caso a compensação se faz sobre o volume de água a ser adicionado ao *mix*.

<i>Componente da reação</i>	<i>Volume</i>	<i>Mix</i>	<i>Parâmetro final</i>
Tampão 10X	5 µL	55 µL	1X
Mix dNTPs a 10 mM	1 µL	11 µL	0,2 mM
Óligos (50 pmol/µL)	1 µL cada	11 µL cada	1 µM
MgCl ₂ 50 mM	1,5 µL	16,5 µL	1,5 mM
Taq 5U/µL	0,5 µL	5,5 µL	2,5 U/49 µL
Água deionizada esterilizada	40 µL	429 µL	

Para outras informações, acesse www.proteobras.com.br