

NEX TUPAM TAQ 2X

Master mix de DNA polimerase termoestável para (q)PCR

250 reações (20 µl); Código do produto: EB2-22



Validade 12 meses após a abertura ou o máximo de acordo com o COA.

Temperatura de transporte: -20 °C a 10 °C.

Temperatura de armazenamento: -20 °C.

Descrição do produto

Apresentamos a Tecnologia de Único Passo para Análise Molecular (NEX TUPAM TAQ 2X), nosso Master Mix otimizado para PCR convencional e PCR quantitativo (qPCR), criado pela equipe de especialistas da ECRA Biotec. Este produto inovador se destaca por incorporar uma Taq DNA polimerase de *Thermus aquaticus* com mutações aprimoradas, resultando em desempenho superior e robustez em comparação com as enzimas convencionais do mercado. O NEX TUPAM TAQ 2X é uma mistura pronta para uso, contendo todos os componentes essenciais para a realização eficiente da PCR - com exceção dos primers e DNA molde e Sondas (qPCR). Essa composição, meticulosamente equilibrada, inclui nossa ECRA TAQ DNA POLIMERASE 2.0 (EB1-20), nucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), tampão de reação com MgCl₂ e estabilizadores. Este Master Mix foi projetado para maximizar a especificidade, sensibilidade e eficiência da sua PCR, ao mesmo tempo que oferece resistência a inibidores de reação. Além disso, possui um sistema Hotstart intrínseco que minimiza a formação de produtos inespecíficos. Sugerimos a utilização do NEX TUPAM TAQ 2X na concentração de 1X em reações de PCR de 10 a 50 µL. Seja para aplicações rotineiras de PCR e qPCR a partir de DNA purificado, colônias bacterianas ou cDNA, este Master Mix é a escolha ideal para garantir resultados confiáveis e reprodutíveis. O sistema é compatível somente com sondas de hidrolise.

Diretrizes para o uso da NEX TUPAM TAQ 2X

Tabela 1. Reagentes fornecidos

Componente	Volume (µL)	Cor
NEX TUPAM TAQ 2X	2 x 1250	Azul

Condições de reação básicas para PCR

Descongele e homogeneíze todos os componentes e necessários para a reação apenas no momento de sua utilização.

Tabela 2. Protocolo para montagem da reação

Componente	Volume 50 µl	Volume 20 µl	Conc. final
NEX TUPAM TAQ 2X	25 µl	10 µl	1X
Primer F	x µl	x µl	0,5 µM
Primer R	x µl	x µl	0,5 µM
DNA molde	y µl	y µl	
Sonda**	x µl	x µl	x nM
H ₂ O	para 50 µl	para 20 µl	

* A concentração final de 0,5 µM de primers pode variar entre 0,1 e 1,0 µM, se necessário;

** O Uso de Sondas devem ser utilizados conforme recomendado pelo fabricante (produto não fornecido).

Notas sobre componentes reacionais

Master Mix 2X contendo 0.30 U/µL de DNA polimerase termoestável; Tampão de amplificação contendo magnésio, dNTPs e estabilizantes. O mix é livre de nucleases.

Molde de DNA

Recomendamos o uso de 0,05ng a 100 ng de DNA de baixa complexidade, por reação (como plasmídeos, DNA lambda ou BAC) e 0,1ng a 200 ng de DNA genômico de alta complexidade, por reação.

Condições dos ciclos

Nota: As condições ótimas podem diferir do protocolo padrão.

Tabela 3. Programações de termociclagem PCR convencional

Etapas	Temperatura	Tempo	
Desnaturação inicial	95 °C	1 min	
Desnaturação	95 °C	5 a 10 s	25 a 40 ciclos
Anelamento dos primers*	x °C	10 a 30 s	
Extensão	72 °C	30 s /kb	
Extensão final	72 °C	2 min	
Término	4 °C		

PCR em tempo real

Etapas	Temperatura	Tempo	
Desnaturação inicial	95 °C	1 min	
Desnaturação	95 °C	15 s	35 a 44 ciclos
Extensão**	55 °C-60 °C	50s	

* A temperatura de anelamento dos primers pode variar dependendo da Tm específica do par de primers.

Alinhamento dos primers

Para que os primers utilizados se alinhem corretamente no DNA molde, uma temperatura condizente com as características dos mesmos deve ser utilizada. Uma temperatura muito alta resultará em pouca ou nenhuma amplificação e uma temperatura muito baixa em inespecificidade no anelamento.

Extensão

O tempo de extensão depende principalmente do comprimento do fragmento a ser amplificado. A preparação enzimática **NEX TUPAM TAQ 2X** é capaz de amplificar 1 kb/30 seg. No entanto em extensões muito longas (acima de 3 kb), recomenda-se utilizar 1 kb/45 seg.

Resolução de problemas

Nenhum produto de PCR ou baixo rendimento

- Use mais DNA molde e certifique-se de que não esteja degradado;
- Aumente o número de ciclos, prolongue o tempo de extensão e otimize a temperatura de anelamento dos primers;
- Adicione MgCl₂ (prod. não fornecido);

- Verifique o estado dos primers e/ou sondas e se eles não formam dímeros ou *hairpins*

Produtos não específicos

- Use menos DNA molde e certifique-se de que não está contaminado;
- Aumente a temperatura de anelamento dos primers, e reduza o número de ciclos;
- Verifique o desenho dos primers.

Referências

Dabrowski, S., & Kur, J. (1998). Recombinant His-tagged DNA polymerase. II. Cloning and purification of *Thermus aquaticus* recombinant DNA polymerase (Stoffel fragment). *Acta Biochimica Polonica*, Vol. 45, pp. 661–667.

Garantia

A *NexViro Biologics* garante que seus produtos atendem às especificações indicadas na seção de dados técnicos. Substituiremos os produtos gratuitamente se não estiverem conforme as especificações. Esta substituição deve ser feita dentro do prazo de 60 dias após o recebimento. Em consideração aos compromissos acima referidos pela *NexViro Biologics*, o comprador concorda e aceita as seguintes condições:

- Que esta garantia substitui todas as outras garantias, expressas ou implícitas;
- Que único recurso do comprador será para obter a substituição do produto de forma gratuita.

Uso para a pesquisa apenas!

Estes produtos se destinam a fins de pesquisa por pessoas qualificadas.

Aviso aos usuários

É de responsabilidade do usuário utilizar os produtos da *NexViro Biologics* para determinar por si próprio a adequação de qualquer material e/ou procedimento para uma finalidade específica e que adote as precauções de segurança que possam ser necessárias. **NEX TUPAM TAQ 2X** é uma marca comercial da *NexViro Biologics*.

Versão 4 (Fev/2024)