

Golden Taq Polymerase kit

Taq Polymérase Recombinante produite en système d'expression bactérien (*E.coli*) + dNTPs

Concentration : **5 U/μl**

Volume : **250 U, 400U, 500U, 1000U, 3000U, 5000U**

Conservation : -20°C pendant 1 an



Produit à usage de recherche uniquement

DESCRIPTION

La Golden Taq Polymerase, issue de la bactérie thermophile *Thermus aquaticus*, est une DNA Polymérase thermostable utilisable pour des applications de PCR standard afin d'amplifier des séquences ADN. La forme recombinante de cette enzyme exprimée en système d'expression bactérien (*E.coli*) est de 95kDa. Un tampon de réaction est inclus ainsi qu'une solution de MgSO4 pour les optimisations éventuelles.

REFERENCE	TAILLE	GOLDEN TAQ POLYMERASE 5U/μL	TAMPON DE REACTION	TAMPON MGSO4	DNTPS
PI-MB001-250-k	250U	50 μl ou lyophilisée (à re-suspendre dans 50 μl d'H2O milliQ (fournie))	250 μl (concentré 10x)	200 μl 100mM	25μl (10Mm)
PI-MB001-400-k	400U	80 μl ou lyophilisée (à re-suspendre dans 80 μl d'H2O milliQ (fournie))	400 μl (concentré 10x)	320 μl 100mM	40μl (10Mm)
PI-MB001-500-k	500U	100 μl ou lyophilisée (à re-suspendre dans 100 μl d'H2O milliQ (fournie))	500 μl (concentré 10x)	400 μl 100mM	50μl (10Mm)

REFERENCE	TAILLE	GOLDEN TAQ POLYMERASE 5U/μL	TAMPON DE REACTION	TAMPON MGSO4	DNTPS
PI-MB001-1000-k	1000U	200 μl ou lyophilisée (à re-suspendre dans 200 μl d'H2O milliQ (fournie))	1000 μl (concentré 10x)	800 μl 100mM	100μl (10Mm)
PI-MB001-3000-k	3000U	3*200 μl ou lyophilisée (à re-suspendre dans 3*200 μl d'H2O milliQ (fournie))	3* 1000 μl (concentré 10x)	3* 800 μl 100mM	3*100 μl (10Mm)
PI-MB001-5000-K	5000U	5*200 μl ou lyophilisée (à re-suspendre dans 5*200 μl d'H2O milliQ (fournie))	5* 1000 μl (concentré 10x)	5* 800 μl 100mM	5*100 μl (10Mm)

NUMERO DE LOT

Se référer aux indications sur chaque tube.

DEFINITION DE L'UNITE ENZYMATIQUE

Une unité est définie comme la quantité d'enzyme qui incorpore 10 nmoles de dNTPs dans un fragment d'ADN en 30 min à 74°C.

TAMPON DE STOCKAGE

Tris-HCl 20mM pH 8; EDTA 0,1mM; DTT 1mM; Glycérol 50%; Tween20 0,5%; Nonidet P-40 0,5%.

TAMPON DE REACTION (1X)

Tris-HCl 20mM pH 8.8; (NH4)2SO4 10mM; 10 mM KCl; 2mM MgSO4; Triton X-100 0,1%.

SUGGESTION DE PROTOCOLE

Pour réaliser des réactions parallèles et éviter les erreurs de pipetage, préparer un mix de PCR en mélangeant l'eau, le tampon, les dNTPs, les amorces et la Golden Taq Polymerase. Le mix de PCR doit être réalisé pour le nombre de réactions + une supplémentaire. Aliquoter ensuite le mix dans les tubes de PCR et ajouter la matrice ADN.

1. Vortexer et centrifuger brièvement les solutions après décongélation.
2. Dans un tube de PCR stérile placé dans la glace, mélanger les composants dans l'ordre suivant (pour 30µL de réaction) :

Produit	Standard	DMSO (option)*
	Volume	
H2O Stérile Ultrapure**	q.s.p. *** 30µl	q.s.p. 30µl
Tampon de réaction 10x	3µl	3µl
dNTP (10mM de chaque)	0.5µl	0.5µl
Amorce Sens (ex : 50µM)	0.5µl	0.5µl
Amorce Antisens (ex : 50µM)	0.5µl	0.5µl
DMSO (Option)	/	1.5µl
Matrice d'ADN	10 à 200ng****	10 à 200ng
Golden Taq Polymerase	1 à 2.5µl	1 à 2.5µl

*Pour les matrices présentant des structures secondaires difficiles à amplifier.

**Qualité biologie moléculaire ou équivalent.

***q.s.p. : quantité suffisante pour.

****10 à 100ng d'ADN plasmidique ou fragment de PCR ou ADNc ; 100 à 200ng d'ADNg.

3. Vortexer à faible vitesse pour mélanger les composants, puis centrifuger brièvement le tube pour amener l'ensemble du milieu réactionnel au fond du tube (si nécessaire).
4. Le cas échéant, ajouter une fine couche d'huile minérale sur le milieu réactionnel pour éviter les phénomènes d'évaporation (non nécessaire pour les thermocycleurs équipés d'un couvercle chauffant ou dispositif équivalent).
5. Introduire les tubes dans le thermocycleur et réaliser la PCR selon les conditions expérimentales suivantes:

Etape	Température	Temps	Cycle(s)
Dénaturation initiale	95°C	2min	1
Dénaturation	92°C	1min	30
Hybridation	60°C*	1min	
Elongation	72°C	1min**	
Elongation finale	72°C	5min	1
Stockage (option)	4°C	variable	1

*Moduler en fonction du Tm des amorces (ici, exemple pour deux amorces de Tm 60°C)

**Moduler en fonction de la longueur de l'ADN à synthétiser (ici, exemple pour 2kb)