

FICHE TECHNIQUE :

Révisée le 29/12/2024.

Réf : PW04

500 unités

Taq ADN Polymerase

Concentration : 5 unités/ μ L

Stockage : à -20 °C pendant deux ans

Description :

La Taq polymérase est purifiée à partir d'*E. coli* exprimant une ADN polymérase clonée de *Thermus aquaticus*. L'enzyme est constituée d'un seul polypeptide d'un poids moléculaire d'environ 94 kDa. La Taq polymérase possède une activité polymérase 5'-3' et une activité exonucléase 5'-3'. Elle ne possède pas d'activité exonucléase 3'-5'. La Taq polymérase est adaptée à l'amplification de routine. Les produits PCR ne sont pas adaptés pour la PAGE

Définition d'une unité :

Une unité (U) correspond à la quantité d'enzyme nécessaire pour catalyser l'incorporation de 10 nmol de dNTP dans un matériel insoluble à l'acide en 30 minutes à 74 °C

Contenu du Kit :

Produit	Quantité
Taq Polymérase	500 unités (5 U/ μ l)
Tampon Taq 10X	0,5 ml

Applications :

- Amplification de fragments d'ADN génomique jusqu'à 4 Kb avec un taux d'élongation : environ 1-2 Kb/min.
- PCR de routine, PCR de colonie
- Une adénine (A) indépendante de la matrice peut être ajoutée à l'extrémité 3' du produit PCR.
- Les produits PCR peuvent être clonés directement dans des vecteurs pEAT.

Contrôle qualité :

La Taq polymérase a passé les tests de contrôle qualité suivants :

- homogénéité confirmée par SDS-PAGE.
- Absence d'activités endonucléases sur ADN simple et double brin.
- Pas d'ADN hôte détecté par PCR.
- Chaque lot de Taq polymérase a été testé pour son efficacité d'amplification du gène *p53* à partir de 10 ng d'ADN génomique humain.

Composition du Tampon de stockage de la Taq polymerase:

20 M Tris-HCl (pH 8,0), 0,1 mM EDTA, 1 mM DTT, 100 mM KCl, 50 % de glycérine (stabilisateur)

Composition du Tampon Taq 10X (avec Mg²⁺) :

200 mM Tris-HCl (pH 8,3), 200 mM KCl, 100 mM (NH₄)₂SO₄, 20 mM MgSO₄, Autres

Composants de la réaction :

Préparer le mélange réactionnel sur glace en combinant les réactifs comme indiqué dans le tableau ci-dessous. Le volume final de la réaction peut être 25 ou 50 µL.

Composant	Volume 25 µL	Volume 50 µL	Concentration finale
Matrice (<0,5 µg)	Variable	Variable	Selon besoin
Primer sens (10 µM)	0.5 µL	1 µL	0,2 µM
Primer antisens (10 µM)	0.5 µL	1 µL	0,2 µM
Tampon 10x Taq HOT START	2.5 µL	5 µL	1X
dNTP (2,5 mM chacun)	2 µL	4 µL	0,2 mM
Taq DNA polymérase HOT START	0,25–1 µL	0,5–1 µL	2,5-5 unités
Eau distillée (ddH ₂ O)	Jusqu'à 25 µL	Jusqu'à 50 µL	

Conditions thermiques :

1. Dénaturation initiale : 94 °C, 3-5 min.
2. Cycles PCR :

<ul style="list-style-type: none"> - 94 °C, 30 s - 50-60 °C, 30 s - 72 °C, 1-2 Kb/min 	}	(30-35 cycles)
--	---	----------------
3. Extension finale : 72 °C, 5-10 min.
4. Stockage : Maintenir à 4 °C après la PCR.

Les produits PCR peuvent être visualisés avec Gold View (réf. EH06-01) sous lumière UV et conservés à -20 °C jusqu'à utilisation.