



# Taq Sólida

---

ADN polimerasa para la amplificación de moléculas de ADN mediante PCR a partir de muestras sólidas.



**PB-L**  
**Productos**  
**Bio-Lógicos®**

Innovación y Desarrollo en Biotecnología

---

<http://www.pb-l.com.ar>





## Taq *Sólida* ADN Polimerasa

Cat. no. EA21

Contenido	EA2101 100 U	EA2102 250 U
Taq <i>Sólida</i> (4U/μl)	25 μl	62,5 μl
Buffer Taq <i>Sólida</i> 2×	1250 μl x2	1250 μl x5
Buffer de lisis 1x	5 ml	13 ml
Proteinasa K 50x	100 μl	250 μl
Primers control 10x	50 μl	100 μl
ddH <sub>2</sub> O (Nucleasa free)	1000 μl	1500 μl x2
Protocolo	1	1

### Almacenamiento

Almacenar a -20 °C.

### Aclaración

*Este producto ha sido desarrollado para su uso exclusivo en investigación. No apto para uso in vitro en ensayos con animales o humanos.*

### Descripción

Taq *Sólida* es una ADN polimerasa termoestable modificada mediante ingeniería genética y desarrollada para la amplificación de moléculas de ADN mediante PCR a partir de muestras sólidas como pelo, tejidos, bacterias, cultivo de células o hisopado bucal, sin necesidad de realizar una purificación de ADN previa.

La enzima ADN polimerasa provista está desarrollada para ser resistente a diferentes inhibidores presentes en este tipo de muestras. Para la amplificación del fragmento de interés es posible utilizar la muestra directa o pretratada con una solución de lisis.

La estrategia de muestra directa permite utilizar como material de partida la muestra sin procesar directamente en el tubo de reacción (pelo, bacteria, tejidos, etc.).

Por otro lado, la segunda alternativa se basa en un pretratamiento de la muestra en un buffer de lisis incluido en este producto.

Los productos de PCR obtenidos con la polimerasa Taq *Sólida* pueden ser utilizados directamente para el clonado T/A.

### **Notas importantes**

- Limpiar la herramienta de corte, entre el seccionamiento de una muestra y otra.
- Para el protocolo de muestra directa utilice 50 µl como volumen final de reacción.
- Utilice el buffer de lisis para muestras difíciles o que no presentan amplificación mediante la alternativa de muestra directa.
- Una vez diluida la Proteinasa K en el buffer de lisis, el mismo será estable a 4 °C durante 72 hs.
- Incorporar la muestra al tubo de reacción como último componente.

### **Protocolo: Muestra directa**

Tomar una muestra de 1 mm<sup>2</sup> en el caso de tejidos, de 2-5 mm en el caso de pelos (a partir de 3 a 5 bulbos pilosos), o tomar una colonia de bacteria (o material equivalente a partir de una estría) y agregarla directamente en el tubo de reacción, como último componente de la misma.

## **Protocolo: Muestra pretratada**

Si obtiene bajos rendimientos con el protocolo de muestra directa, preincubar las mismas cantidades de muestras frescas en 25-50  $\mu$ l de buffer de lisis 1X, conteniendo la proteinasa K en una concentración final 1X, a 65 °C durante 15 min (si el fragmento es mayor, incrementar el volumen de buffer de lisis hasta q la misma quede completamente sumergida). Posteriormente incubar la muestra a 95 °C durante 10 min, centrifugar para precipitar los restos de mayor tamaño y del sobrenadante obtenido tomar 1  $\mu$ l como molde por tubo de reacción.

## **Primers Control 10X**

Este producto contiene un par de *primers* control para muestras derivadas de mamíferos. Los mismos se utilizan sobre la muestra de interés de forma paralela a la muestra conteniendo los *primers* específicos. El producto de amplificación de los *primers* control es un fragmento de 237 pb. Los mismos poseen una temperatura de melting de 73 °C.

## **Control positivo de reacción**

Al momento de realizar la optimización de la reacción sobre una muestra, es recomendable utilizar un control positivo usando como molde el ADN previamente purificado. Si en el control positivo no se obtiene amplificación las condiciones de reacción (concentración de los *primers*, temperatura de *annealing* o extensión, etc.) deberán ser optimizadas.

### Ejemplo de una reacción estándar:

	Muestra	Control
Molde	0,5 ul	0,5 ul
Primer 1 (10 µM)	1,25 µl	-
Primer 2 (10 µM)	1,25 µl	-
Primers Control 10X	-	2,5 µl
Buffer Taq Sólida 2X	12,5 µl	12,5 µl
dNTP (2 mM)	2,5 µl	2,5 µl
Taq SOLIDA (4 U/µl)	0,25 µl	0,25 µl
ddH <sub>2</sub> O	6,75 µl	6,75 µl

### Perfil de ciclado

95', 5 min	30-35 ciclos
95', 5-15 seg	
55-65', 15 seg	
72', 1kpb/min	
72', 5 min	

*Nota: Las condiciones de reacción y el perfil de ciclado se encuentran optimizados para una reacción estandar, pero es posible que deban ser modificados según los primers y el molde target.*