



THERMOSTAR® 2 HotStart Taq Mix

1/ INTRODUCTION-DESCRIPTION :

Le Mix Taq Polymerase ThermoStar® 2 utilise les dernières avancées dans les technologies de polymérase combinées à une composition optimisée du tampon. Elle permet d'améliorer la vitesse, le rendement et la spécificité de la PCR. L'enzyme et le système de tampon permettent des performances supérieures sur les matrices complexes comme de l'ADN génomique de mammifère.

Le Mix Taq Polymerase ThermoStar® 2 est un mix robuste pour toutes vos applications de PCR de routine ainsi que pour le génotypage, le screening et la constitution de banques d'ADN. Ses performances sont constantes sur une large gamme de matrices (riches en GC ou AT). Le Mix Taq Polymerase ThermoStar® 2 possède un taux d'erreur d'environ 1 erreur tous les 2.0×10^5 nucléotides. Les produits de PCR générés avec la ThermoStar® 2 ont une queue poly-A et peuvent être clonés dans des vecteurs TA.

Le Mix Taq Polymerase ThermoStar® 2 est particulièrement résistant aux inhibiteurs de la PCR. Le mélange est adapté pour la PCR directe à partir d'échantillons non traités, y compris la culture bactérienne, les colonies bactériennes, le sang et l'urine.

2/ STABILITE-CONSERVATION :

A réception le kit doit être stocké à -20°C. Eviter une exposition prolongée à la lumière. Le kit peut être stocké à +4°C pendant 1 mois. Il peut subir 30 cycles de décongélation / congélation sans perte d'activité.

3/ LIVRAISON : Le Mix Taq Polymerase ThermoStar® 2 est livré en packs froids.

4/ CONDITIONNEMENTS :

Désignation	Conditionnement
THERMOSTAR® 2 HotStart Taq Mix (ThermoStar® 2, 6mM MgCl ₂ , 2mM dNTPs, stabilisants)	5 x 1 ml

5/ CARACTERISTIQUES : Ce produit est destiné à être utilisé en recherche uniquement.

2X Hot Start Taq Mix : Le mix 2X contient la ThermoStar® 2, 6mM de MgCl₂, 2mM de dNTPs et des stabilisants. Il n'est pas recommandé d'ajouter plus de MgCl₂ à la réaction. La composition du tampon a été optimisée pour assurer une réaction de PCR optimale.

Matrice : Pour de l'ADN eucaryote, utilisez entre 5 et 500ng par réaction. Pour de l'ADNc, utilisez jusqu'à 100ng par réaction.

Amorces : Les amorces doivent avoir une température de fusion autour de 60°C, en utilisant les paramètres par défaut de Primer 3 (<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>). La concentration finale d'amorces dans la réaction doit être entre 0.2 et 0.6 µM.

Hybridation : Nous recommandons d'effectuer un gradient de température pour déterminer expérimentalement la température d'hybridation optimale. Autrement, nous recommandons une température d'hybridation de 55°C puis d'incrémenter par pas de 2°C tant qu'aucun produit non spécifique n'est présent.

Elongation : L'élongation optimale est atteinte à 72°C. Le temps optimal d'élongation dépend de la taille de l'amplicon et de la complexité de la matrice. 15 secondes par kilobase (kb) est recommandées pour une amplification d'ADN eucaryote, avec des amplicons entre 1 et 6 kb. Pour des amplicons plus courts, une élongation de 1 seconde est suffisante.

PCR multiplex : Lorsque vous effectuez une première PCR multiplex, il est recommandé d'utiliser un gradient de température d'élongation de 55°C à 65°C. La température d'élongation conduisant à la meilleure spécificité doit être utilisée dans les expérimentations. Les conditions de cycles rapides ne doivent pas être utilisées pour la PCR multiplex. Nous recommandons un temps d'élongation de 90 secondes. Ce délai peut être prolongé pour augmenter le rendement.

PCR sur colonies : A partir de colonies bactériennes, utiliser une pointe stérile pour choisir une colonie et remettre en suspension dans un volume réactionnel de 50µl comme décrite ci-dessous. A partir de culture liquide, ajouter 5 µl de la culture obtenue après une nuit dans le mélange final. Augmenter le temps de dénaturation initiale à 10 minutes.

PCR directe sang /urine : Ajouter 2 µl de sang ou d'urine de mammifères à une réaction de 50 µl décrite comme ci-dessous.

6/ PROTOCOL EXPERIMENTAL:

1. Préparer un MasterMix en vous référant au tableau suivant :

Cycles	Température	Durée	Notes
1	95°C	1 à 2 min	Dénaturation initiale et activation de l'enzyme. (Pour les colonies, augmenter à 10 minutes)
40	95°C	15 secondes	Dénaturation
	55°C à 65°C	15 secondes	Hybridation
	72°C	1 à 90 secondes	Elongation (15 secondes par kb). Utiliser 90s en cas de PCR multiplex

2. Programmer l'appareil en utilisant le cycle thermique suivant :

Réactif	Réaction de 50µL	Concentration finale	Notes
ThermoStar® 2 Hot Start Mix	25µl	1x	
Amorce Sens (10µM)	2µl	400nM	Voir ci-dessus pour un dessin optimal des amorces
Amorce Antisens (10µM)	2µl	400nM	
Matrice ADN	<100ng ADNc, <500ng génomique		variable
H ₂ O qualité PCR	q.s.p 50µL de volume final		

7/ SUPPORT TECHNIQUE :

Pour un support technique et une aide à l'utilisation, envoyez les informations suivantes à :
info@eurobio-scientific.com

- Taille de l'amplicon
- Protocole de la PCR
- Cycle thermique

8/ MATERIELS ET REACTIFS NON FOURNIS :

En fonction de l'application, du matériel non fourni peut-être requis (pipettes, flasques, micropipettes...).

9/ DESTRUCTION :

Eliminer tous les déchets conformément à la législation sur les DASRI.