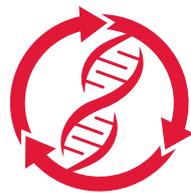


# PCR e biologia molecular

Produtos de qualidade certificados para (q)PCR



**Molecular  
Diagnostic  
Workflow**





Desde 1961, a SARSTEDT desenvolve e fabrica produtos de alta qualidade para a medicina e para a ciência.

Descubra nossa gama de produtos abrangente nas páginas a seguir e receba dicas valiosas para otimizar ainda mais o processo da reação PCR.

**A fim de garantir a qualidade constantemente alta de nossos produtos, apostamos em:**

- ✓ Construções inteligentes de artigos e ferramentas para espessuras de parede uniformes
- ✓ Seleção de matérias-primas de alta qualidade (por ex., materiais da classe "Medical Grade")
- ✓ Produção automatizada em condições de sala limpa
- ✓ Controles de qualidade complexos (por ex., verificações de 100% da estanqueidade)
- ✓ Sistema de gestão de qualidade certificado conforme a norma ISO 13485
- ✓ Colaboradores com excelente formação

Assim, conseguimos atingir nossa excelente qualidade de produto "Made in Germany".

Além da nossa gama de produtos padrão, oferecemos ainda produtos de alto desempenho fabricados em conformidade com as mais modernas tecnologias, que oferecem, por ex., propriedades Low Binding para biomoléculas específicas ou graus consistentemente elevados de pureza. Para necessidades especiais, produzimos também produtos configurados especificamente para o cliente. Se tiver interesse, não hesite em entrar em contato conosco.

A sua equipe **SARSTEDT**

## Índice

Começar imediatamente – com máxima pureza! .....	4
A qualidade de plásticos para PCR é importante – Desempenho confiável em todas as aplicações de (q)PCR através de padrões de produção inovadores .....	4
<b>Pureza e confiabilidade máximas para análises altamente sensíveis</b>	
PCR Performance Tested .....	5
Biosphere® plus – Nossa vantagem em segurança .....	5
Sensibilidade otimizada e reprodutibilidade melhorada.....	6
DNA & Protein Low Binding – para uma recuperação máxima da amostra .....	7
<b>Placas PCR Multiply® da SARSTEDT – Confiabilidade máxima</b>	
Placas PCR com borda – Máxima eficiência e variabilidade reduzida .....	9
Placas PCR Protein Low Binding com borda.....	11
Placas PCR com meia borda – High Profile.....	13
Placas PCR com meia borda – Low Profile .....	15
Placas PCR sem borda – High Profile .....	17
Placas PCR sem borda – Low Profile.....	19
Placas PCR de 384 poços.....	21
<b>Placas PCR Multiply® – Tabela de compatibilidade.....</b>	<b>22-23</b>
Cadeias de tampas para PCR.....	25
Filmes de vedação adesivos .....	26
Pré-carregamento prático – a alternativa para placas PCR de 2 componentes com quadro de policarbonato.....	29
Cadeias PCR com cadeia de tampas separada .....	31
Cadeias PCR com cadeia de tampas separada .....	32
Cadeias PCR com tampas acopladas .....	33
Recipiente individual PCR com tampa acoplada .....	35
Sistemas inteligentes de racks e pipetagem .....	36
Sistema de racks SARSTEDT – A estação flexível de armazenamento e pipetagem .....	37
Dicas/diretrizes para reações PCR bem sucedidas .....	38
Lista de verificação de resolução de problemas de PCR.....	39

## Começar imediatamente – com máxima pureza!

Condições de sala limpa, pessoal treinado usando vestuário de proteção e processos de produção automatizados são os pré-requisitos básicos para os padrões de qualidade certificados da SARSTEDT.

Com controles de qualidade complexos, realizados regularmente por um laboratório independente, oferecemos consumíveis que podem ser utilizados de maneira confiável e sem esforços adicionais.

Hoje em dia, em alguns casos, ainda é uma prática comum realizar a autoclavagem de consumíveis. Muitas pessoas confundem produtos estéreis com artigos isentos de DNA. No entanto, uma esterilização não elimina biomoléculas

indesejadas como, por ex., DNA, RNases ou pirogênicos. O que é ainda mais sério, porém, é que a autoclavagem pode causar uma contaminação dos artigos. Uma separação constante de autoclaves para a esterilização de resíduos de laboratório, por um lado, e consumíveis limpos, por outro lado, raramente funciona por muito tempo. Na atmosfera saturada de vapor da autoclave, plasmídeos ou RNases dos resíduos de laboratório autoclavados anteriormente são facilmente transferidos para os consumíveis limpos.

Portanto, evite este trabalho adicional e arriscado e comece imediatamente com nossos consumíveis certificados e de elevada pureza.

---

## A qualidade de plásticos para PCR é importante – Desempenho confiável em todas as aplicações de (q)PCR através de padrões de produção inovadores

Durante todo o nosso processo de fabricação focado em PCR, nós levamos em consideração parâmetros importantes que influenciam na qualidade dos artigos de plástico para PCR. Isso já começa ao projetar e construir moldes de precisão. Somente ferramentas moldadas com precisão permitem produzir artigos de plástico extremamente homogêneos, cuja uniformidade dos poços minimiza a variabilidade dos dados. Os produtos são fabricados com processos automatizados em áreas de produção de pureza extrema. Realizamos procedimentos de limpeza complexos, pois até mesmo os menores vestígios de produtos químicos podem prejudicar a amplificação da PCR. Desde a moldagem até a embalagem final, nosso processo de produção é altamente automatizado e realizado sob condições controladas em instalações protegidas por fluxo laminar.

Para a fabricação de artigos da SARSTEDT são usadas

apenas matérias-primas de máxima pureza e qualidade, que atendem às diversas diretrizes e normas internacionais (principalmente as chamadas classes “Medical Grades”). Escolhemos exclusivamente fornecedores que apoiam nossa filosofia de qualidade máxima. E é claro que não juntamos nenhum aditivo, como, por ex., bisfenóis ou biocidas. Todos os materiais foram selecionados cuidadosamente para a finalidade prevista e especialmente qualificados para o aproveitamento máximo dos nossos produtos.

Nossos padrões de produção são complementados por controles de qualidade altamente eficazes, como, por ex., verificações de estanqueidade de cada um dos poços ou garantia da geometria dos artigos. E, em especial, nossa qualidade constante – com a qual conseguimos produzir espessuras de parede sempre uniformes – permite que você obtenha sempre resultados de PCR precisos e reproduzíveis.

# Pureza e confiabilidade máximas para análises altamente sensíveis

## PCR Performance Tested



Nossa certificação de pureza PCR Performance Tested foi desenvolvida especialmente para a análise de ácidos nucleicos. Todos os artigos com certificação PCR Performance Tested são testados por um laboratório independente e são isentos de DNA

humano e bacteriano, isentos de DNase e RNase e isentos de inibidores de PCR. O teste adicional para a detecção de inibidores de PCR é importante, porque aditivos usados na fabricação de consumíveis podem ter um efeito inibidor de PCR.

Existem também diversas substâncias que podem ser facilmente "arrastadas" para suas amostras valiosas e que atuam como fortes inibidores da reação PCR. Exemplos conhecidos são a hemoglobina ou o etanol, que é utilizado frequentemente no isolamento de ácidos nucleicos, por exemplo. No entanto, muitos inibidores de PCR também são amplamente desconhecidos. Por exemplo, as amostras de expectoração frequentemente têm um efeito inibidor de PCR, embora os componentes responsáveis por isso ainda não tenham sido identificados. Os inibidores de PCR são particularmente graves quando o efeito inibidor atua de maneiras diferentes em diversos genes-alvo (por ex., quando a amplificação de um gene de manutenção é mais ou menos afetada do que a amplificação de um gene de interesse analisado em paralelo). Por isso, sempre que possível, utilize apenas consumíveis certificados para a isenção de inibidores de PCR.

As RNases onipresentes são sempre um desafio ao trabalhar com RNA. Ao contrário das DNases relacionadas, muitas RNases não requerem cofatores, como  $Mg^{2+}$ , para estarem ativas. Além disso, as RNases são muito estáveis e possuem a capacidade de voltar para a conformação inicial ao serem expostas ao calor.

Nós garantimos o cumprimento dos seguintes valores limite para os nossos artigos PCR Performance Tested:

DNA humano	<0,5 pg/μl
DNA bacteriano	<0,02 pg/μl
DNase	< $1 \times 10^{-5}$ U/μl
RNase	< $1 \times 10^{-9}$ unidades Kunitz/μl
Inibidores de PCR	<0,5 ciclos
	Deslocamento do valor $C_t$

## Biosphere® plus – Nossa vantagem em segurança



Cada vez mais aplicações exigem uma ausência absoluta e confiável de DNA ou outras biomoléculas. Por isso, no futuro, os produtos certificados Biosphere® plus serão submetidos adicionalmente a um processo de descontaminação validado. Graças

a um tratamento com óxido de etileno (EtO), todo o DNA e outras biomoléculas possivelmente existentes são destruídos e os artigos esterilizados. Outros testes para detectar a isenção de pirogênios e ATP (dica: importante para ensaios baseados em luminescência) complementam a nossa certificação Biosphere® plus.

Para podermos garantir de forma confiável a ausência absoluta de contaminações, até mesmo das menores, podemos atestar que os seguintes valores limite dos nossos produtos certificados Biosphere® são cumpridos:

DNA humano	<5,0 fg/μl
DNA bacteriano	<0,2 fg/μl
Esterilidade validada em conformidade com a norma	ISO 11135
ATP	< $1 \times 10^{-12}$ mmol/μl
Pirogênios/endotoxinas	<0,002 EU/ml
DNase	< $5 \times 10^{-7}$ U/μl
RNase	< $5 \times 10^{-11}$ unidades Kunitz/μl
Inibidores de PCR	<0,5 ciclos
	Deslocamento do valor $C_t$

## Sensibilidade otimizada e reprodutibilidade melhorada

As aplicações à base de fluorescência, como PCR em tempo real (qPCR), se beneficiam das propriedades de reflexão claramente superiores dos consumíveis para PCR brancos, especialmente ao utilizar volumes menores. Além disso, devido à coloração opaca, não há mais nenhuma perda da luz de fluorescência através das paredes e, graças à reflexão do corante branco otimizado, a quantidade de luz de fluorescência atingida pelo detector é mais constante do que quando produtos transparentes são usados. Da mesma maneira, uma dispersão significativamente menor pode ser alcançada ao repetir experimentos ou ao aplicar duplicados ou triplicados.

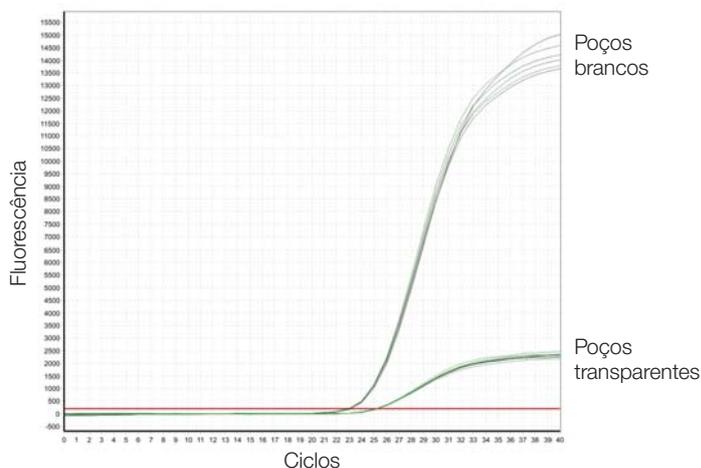
Devido ao nível de fluorescência mais elevado dos consumíveis para PCR brancos e aos efeitos de fundo constantes do fluoróforo usado, também é possível atingir uma melhor relação sinal/fundo. A coloração branca opaca também ajuda a evitar a detecção da luz de fluorescência dispersada de poços adjacentes e, assim, no pior caso, uma detecção falso-positiva.

No entanto, a maior vantagem dos consumíveis para PCR brancos é a sensibilidade significativamente melhorada em comparação com o material transparente. Na *fig. 1* pode-se ver que a intensidade de fluorescência medida com a mesma quantidade de molde e enzima é claramente maior em recipientes brancos do que em recipientes transparentes. Além disso, até o valor Ct é reduzido de  $24,87 \pm 0,08$  (transparente) para  $23,40 \pm 0,07$  (branco), o que mostra que a detecção das 1.000 moléculas do molde ocorre mais cedo em recipientes brancos. Esta é outra grande vantagem, especialmente quando estão disponíveis apenas quantidades mínimas de material inicial.

Conseqüentemente, mudar de consumíveis para PCR transparentes para brancos também permite reduzir economicamente o volume das misturas do experimento. Dessa maneira é possível reduzir significativamente os reagentes usados (enzimas, sondas, primers, etc.), permitindo reduzir os custos de reagentes.

O uso de consumíveis para PCR brancos oferece vantagens consideráveis. Portanto, não comprometa seus resultados simplesmente para conseguir inspecionar os poços pela lateral ou por baixo.

### Comparação do nível de fluorescência de poços brancos e transparentes



*Fig. 1: Comparação do valor de fluorescência dos artigos 72.985.002 (transparente) e 72.985.092 (branco), ambos fechados com a cadeia de tampas altamente transparentes 65.989.002. Foi amplificado um fragmento de 100 bp de plasmídeo EmGFP (quantidade de molde de 1.000 moléculas) com um volume de 20 µl usando o termociclador Eppendorf realplex 4S (n=8).*

## DNA & Protein Low Binding – para uma recuperação máxima da amostra

A tendência para volumes de amostra cada vez menores faz aumentar a importância de minimizar eventuais interações dos analitos com os recipientes. Além disso, o aumento do uso de consumíveis de PCR para outras aplicações, muitas vezes, exige uma recuperação máxima da amostra. Especialmente na preparação e no armazenamento de amostras de ácidos nucleicos (de baixa concentração), assim como na criação de séries de diluição, é extremamente importante que todas as biomoléculas possam ser recuperadas das cavidades.

A perda de peptídeos e proteínas é um fenômeno conhecido na área da análise de proteínas ou peptídeos por espectrometria de massa, onde frascos de vidro e recipientes PP normais são usados. Utilizando produtos Protein Low Binding é possível recuperar significativamente mais proteínas ou peptídeos para análises subsequentes. As enzimas possivelmente utilizadas também permanecem ativas, uma vez que a superfície dos artigos Protein Low Binding reduz também a desnaturação de enzimas em resultado da interação com a parede do recipiente. Geralmente, assim que

uma concentração crítica de proteínas não é atingida, não é mais possível realizar uma análise de proteínas confiável usando recipientes de reação comuns. O uso de produtos Protein Low Binding também garante confiabilidade máxima na imunoprecipitação, limpeza ou isolamento de proteínas e no armazenamento de amostras de proteínas, peptídeos ou anticorpos.

As propriedades de ligação reduzidas dos nossos produtos para ácidos nucleicos ou peptídeos/proteínas resultam do uso de matérias-primas especiais e de um tratamento físico especial. É claro que não são usados revestimentos com silicone ou substâncias similares, a fim de atingir as propriedades especiais.

Nós oferecemos a você produtos fabricados em conformidade com o mais atual estado da tecnologia, com propriedades DNA Low Binding e Protein Low Binding.

### Protein Low Binding – Representação comparativa das perdas de proteína:

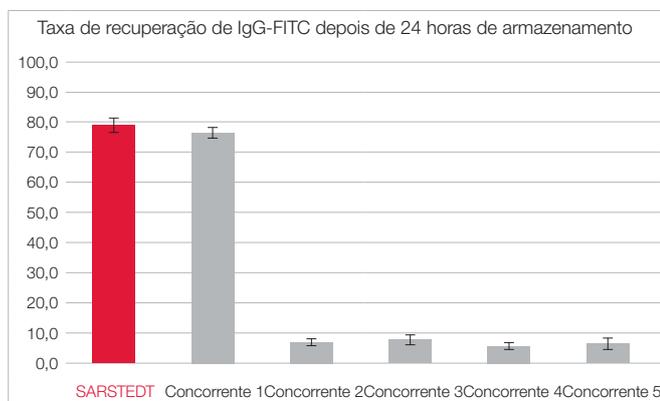


Fig. 2: Uma solução de conjugado IgG-FITC foi armazenada em 8 porções de 125 µl (1,0 µg/ml em solução PBS; Sigma Aldrich, ref. F9636) durante 24 horas em artigos Protein Low Binding da SARSTEDT e de 5 concorrentes. Após a incubação, 100 µl de cada uma foram transferidos para placas multipoços ELISA pretas (SARSTEDT, ref. 82.1581.220), que haviam sido bloqueadas previamente, durante pelo menos 2 h, com 1 x Roti-Block (Carl Roth, ref. A151.4), e medidas no leitor de placas Infinite 200 pro (Tecan). O experimento foi repetido durante 3 dias seguidos. Ao contrário da maioria dos produtos da concorrência testados, o armazenamento nos artigos Protein Low Binding da SARSTEDT não leva a nenhuma perda significativa. Um produto da concorrência também apresentou uma alta taxa de recuperação.

### DNA Low Binding – Representação comparativa das perdas de DNA:

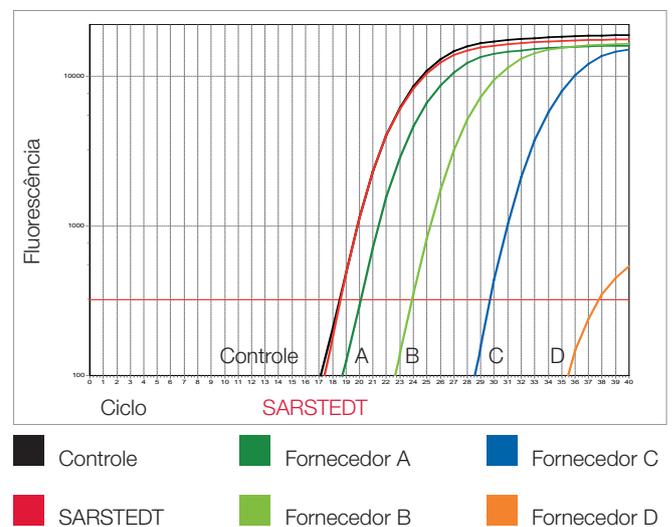


Fig. 3: Cada um dos 10 recipientes de teste de vários fornecedores foi cheio com 100 µl de uma solução de DNA plasmídeo (concentração: 104 cópias/µl) e agitado a 37 °C.

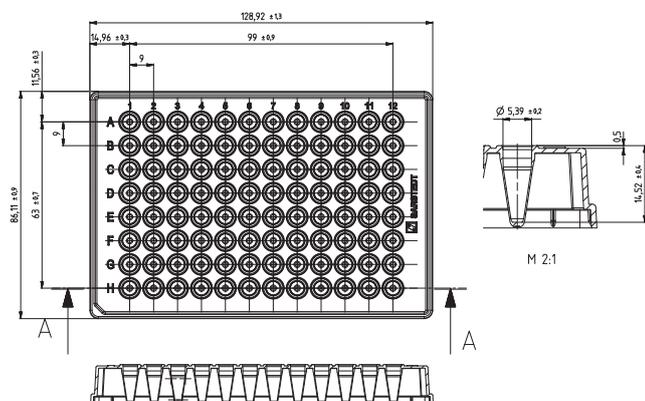
Depois do tempo de incubação de 3 h, o teor de DNA foi determinado através de PCR em tempo real.

Como exemplo, neste diagrama é representada uma das 10 séries de experimentos.

## Placas PCR Multiply® da SARSTEDT – Confiabilidade máxima



## Placas PCR com borda – Máxima eficiência e variabilidade reduzida



### Informações do produto:

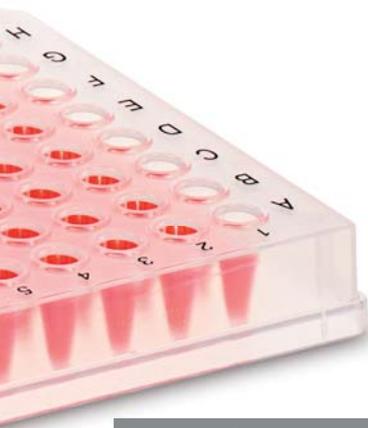
Perfil: . . . . . Low Profile

Volume máximo do poço: . . . . . 0,1 ml

Canto recortado: . . . . . H1

### Propriedades e vantagens:

- Paredes dos poços extremamente uniformes e finas permitem uma transferência térmica consistentemente homogênea e com a maior rapidez possível. Dessa maneira, é possível garantir resultados confiáveis e altamente reproduzíveis.
- As dimensões em conformidade com o padrão ANSI permitem a utilização em sistemas automatizados.
- A borda elevada à volta de cada poço protege contra contaminações cruzadas e permite uma vedação segura usando filmes, protegendo também contra perdas por evaporação.
- Uma inscrição alfanumérica em preto facilita a identificação das amostras e o rastreamento no caso de enchimento manual.
- A produção em condições de sala limpa e testes biológicos realizados de forma independente permitem as certificações de pureza excepcionais PCR Performance Tested e Biosphere® plus.
- Verificação de 100% da estanqueidade de cada poço individual para a segurança máxima de amostras valiosas.
- Possibilidade de empilhar de forma fácil e segura para aproveitar eficientemente um espaço de armazenamento limitado.



Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.:
Placa PCR de 96 poços com borda	transparente		10 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1980
Placa PCR de 96 poços com borda	transparente		1 unidade/blister e 20 unidades/caixa	72.1980.201
Placa PCR de 96 poços com borda	branca (otimizada para qPCR)		10 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1980.010
Placa PCR de 96 poços com borda, <b>DNA Low Binding</b>	transparente		10 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1980.700

Outras cores e versões com código de barras a pedido.

Cadeias de tampas e filmes de vedação adequados podem ser encontrados nas páginas 24-27.

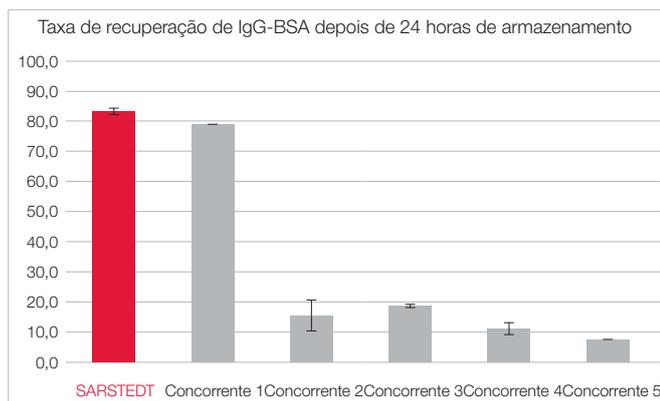




## Placa PCR Protein Low Binding com borda

A perda de peptídeos e proteínas é um fenômeno conhecido na área da análise de proteínas ou peptídeos por espectrometria de massa, onde frascos de vidro e recipientes PP normais são usados. Assim que uma concentração crítica de proteínas não é atingida, não é mais possível realizar uma análise usando recipientes de reação comuns. Por isso, oferecemos placas Protein Low Binding de 96

poços com borda para a preparação, o fornecimento e o armazenamento de quantidades mínimas de amostras no intervalo de temperaturas negativas (-20 °C até -80 °C). Além disso, as placas são perfeitamente adequadas para o uso na imunoprecipitação, limpeza ou isolamento de proteínas e na preparação ou armazenamento de amostras de proteínas, peptídeos ou anticorpos.



Uma solução de conjugado BSA-FITC foi armazenada em 8 porções de 125 µl (1,0 µg/ml em solução PBS; ThermoFisher Scientific, ref. A23015) durante 24 horas em artigos Protein Low Binding da SARSTEDT e de 5 concorrentes. Após a incubação, 100 µl de cada uma foram transferidos para placas multipoços ELISA pretas (SARSTEDT, ref. 82.1581.220), que haviam sido bloqueadas previamente, durante pelo menos 2 h, com 1 x Roti-Block (Carl Roth, ref. A151.4), e medidas no leitor de placas Infinite 200 pro (Tecan). O experimento foi repetido durante 3 dias seguidos. Ao contrário da maioria dos produtos da concorrência testados, o armazenamento nos artigos Protein Low Binding da SARSTEDT não leva a nenhuma perda significativa. Um produto da concorrência também apresentou uma alta taxa de recuperação.

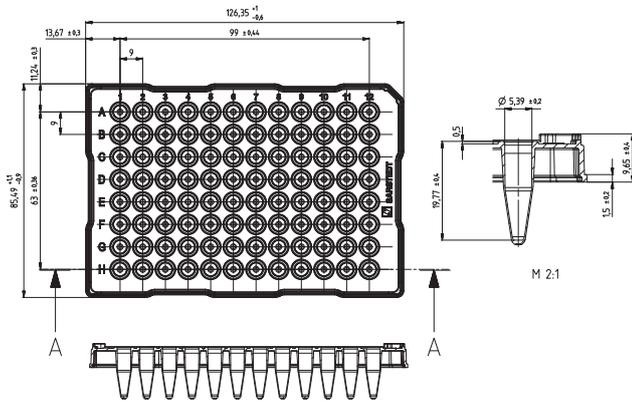


**Sugestão:**  
Para o armazenamento de amostras, recomendamos usar as cadeias de tampas compatíveis 65.989.002.

Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.:
Placa PCR de 96 poços com borda, <b>Protein Low Binding</b>	transparente		10 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1980.600
Cadeias de tampas para PCR	Altamente transparentes		120 unidades/pacote e 480 unidades/caixa	65.989.002



## Placas PCR com meia borda – High Profile



### Informações do produto:

Perfil: ..... High Profile  
 Volume máximo do poço: ..... 0,2 ml  
 Canto recortado: ..... A12

### Propriedades e vantagens:

- Paredes dos poços extremamente uniformes e finas permitem uma transferência térmica consistentemente homogênea e com a maior rapidez possível. Dessa maneira, é possível garantir resultados confiáveis e altamente reproduzíveis.
- A borda elevada à volta de cada poço protege contra contaminações cruzadas e permite uma vedação segura usando filmes, protegendo também contra perdas por evaporação.
- Uma inscrição alfanumérica em preto facilita a identificação das amostras e o rastreamento no caso de enchimento manual.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos realizados de forma independente permitem as certificações de pureza excepcionais PCR Performance Tested e Biosphere® plus.
- Verificação de 100% da estanqueidade de cada poço individual para a segurança máxima de amostras valiosas.
- Possibilidade de empilhar de forma fácil e segura para aproveitar eficientemente um espaço de armazenamento limitado.

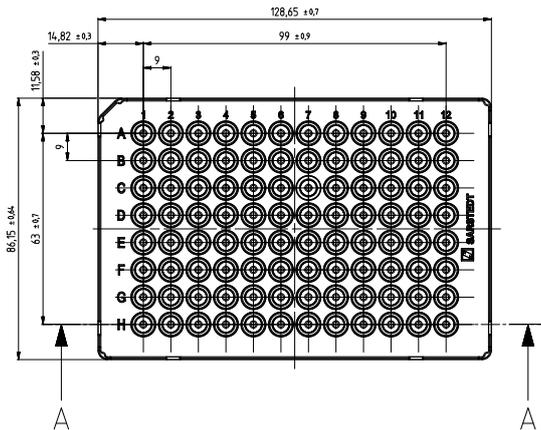
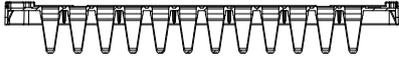
Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.:
Placa PCR de 96 poços com meia borda	transparente		10 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1979
Placa PCR de 96 poços com meia borda	transparente		1 unidade/blister e 20 unidades/caixa	72.1979.201
Placa PCR de 96 poços com meia borda	branca (otimizada para qPCR)		10 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1979.010
Placa PCR de 96 poços com meia borda e código de barras	transparente		10 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1979.003
Placa PCR de 96 poços com meia borda, <b>DNA Low Binding</b>	transparente		10 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1979.700
Placa PCR de 96 poços com meia borda e tampa plana	transparente		5 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1979.102
Placa PCR de 96 poços com meia borda e tampa plana	branca (otimizada para qPCR)		5 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1979.132

Outras cores e versões com código de barras a pedido.

Cadeias de tampas e filmes de vedação adequados podem ser encontrados nas páginas 24-27.



## Placas PCR com meia borda – Low Profile



### Informações do produto:

Perfil: . . . . . Low Profile  
 Volume máximo do poço: . . . . . 0,1 ml  
 Canto recortado: . . . . . A1

### Propriedades e vantagens:

- Paredes dos poços extremamente uniformes e finas permitem uma transferência térmica consistentemente homogênea e com a maior rapidez possível. Dessa maneira, é possível garantir resultados confiáveis e altamente reproduzíveis.
- As dimensões em conformidade com o padrão ANSI permitem a utilização em sistemas automatizados.
- A borda elevada à volta de cada poço protege contra contaminações cruzadas e permite uma vedação segura usando filmes, protegendo também contra perdas por evaporação.
- Uma inscrição alfanumérica em preto facilita a identificação das amostras e o rastreamento no caso de enchimento manual.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos realizados de forma independente permitem a certificação de pureza excepcional PCR Performance Tested.
- Verificação de 100% da estanqueidade de cada poço individual para a segurança máxima de amostras valiosas.
- Possibilidade de empilhar de forma fácil e segura para aproveitar eficientemente um espaço de armazenamento limitado.

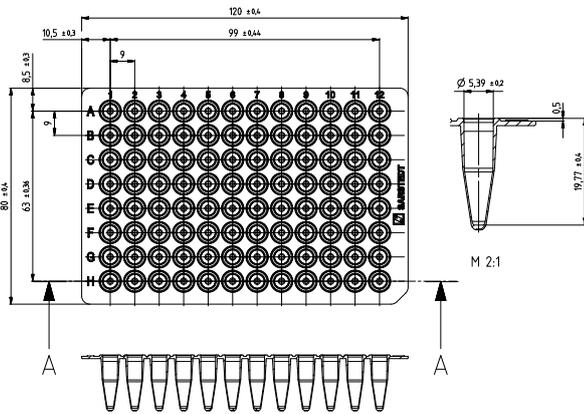
Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.:
Placa PCR de 96 poços com meia borda	transparente		10 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1981
Placa PCR de 96 poços com meia borda	branca (otimizada para qPCR)		10 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1981.010
Placa PCR Lightcycler 480 com meia borda, 96 poços	branca (otimizada para qPCR)		25 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1982.202

Outras cores e versões com código de barras a pedido.

Cadeias de tampas e filmes de vedação adequados podem ser encontrados nas páginas 24-27.



## Placas PCR sem borda – High Profile



### Informações do produto:

Perfil: . . . . . High Profile  
 Volume máximo do poço: . . . . . 0,2 ml  
 Canto recortado: . . . . . H12

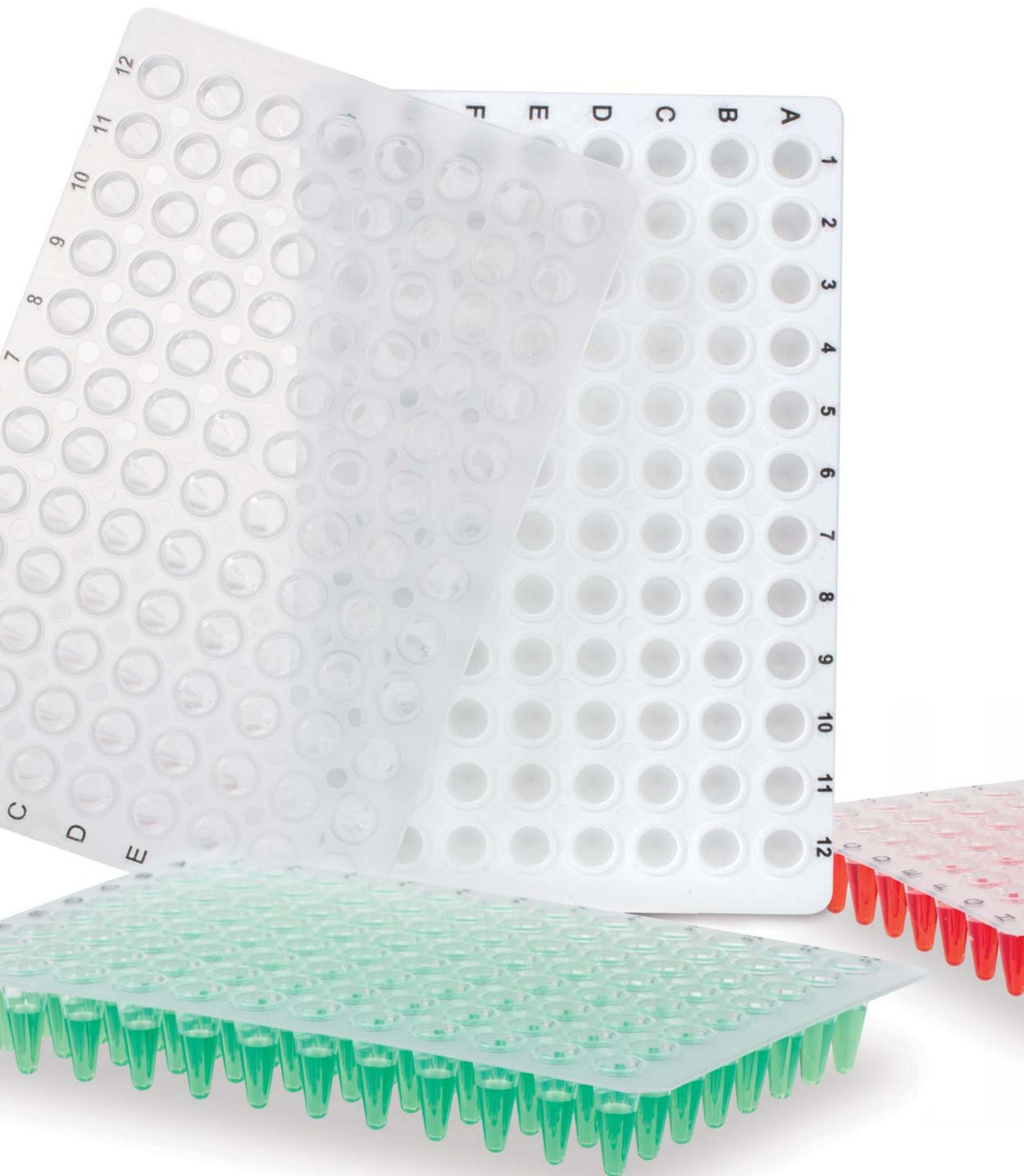
### Propriedades e vantagens:

- Fácil de recortar, caso o volume de amostra seja pequeno ou se forem necessários formatos de 24 ou 48 poços.
- Paredes dos poços extremamente uniformes e finas permitem uma transferência térmica consistentemente homogênea e com a maior rapidez possível. Dessa maneira, é possível garantir resultados confiáveis e altamente reproduzíveis.
- As dimensões em conformidade com o padrão ANSI
- permitem a utilização em sistemas automatizados.
- A borda elevada à volta de cada poço protege contra contaminações cruzadas e permite uma vedação segura usando filmes, protegendo também contra perdas por evaporação.
- Uma inscrição alfanumérica em preto facilita a identificação das amostras e o rastreamento no caso de enchimento manual.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos realizados de forma independente permitem a certificação de pureza excepcional PCR Performance Tested.
- Verificação de 100% da estanqueidade de cada poço individual para a segurança máxima de amostras valiosas.
- Possibilidade de empilhar de forma fácil e segura para aproveitar eficientemente um espaço de armazenamento limitado.

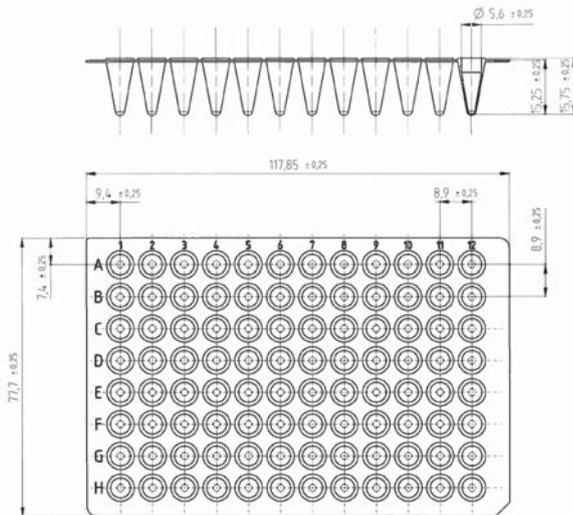
Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.:
Placa PCR de 96 poços sem borda	transparente		10 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1978
Placa PCR de 96 poços sem borda	branca (otimizado para qPCR)		10 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1978.010

Outras cores a pedido.

Cadeias de tampas e filmes de vedação adequados podem ser encontrados nas páginas 24-27.



## Placas PCR sem borda – Low Profile



### Informações do produto:

Perfil: . . . . . Low Profile  
 Volume máximo do poço: . . . . . 0,1 ml  
 Canto recortado: . . . . . H12

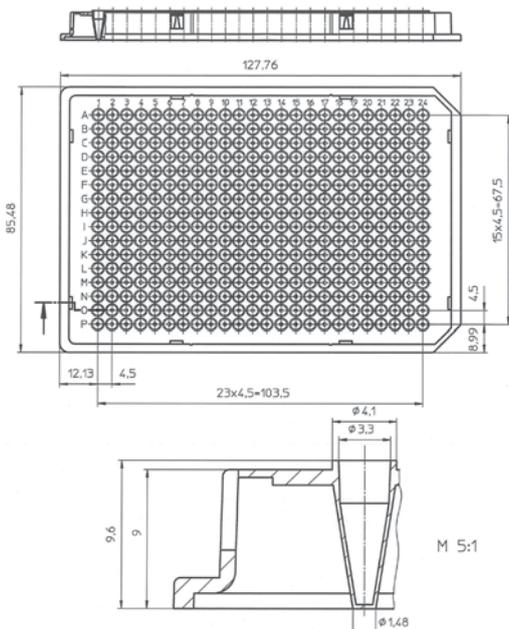
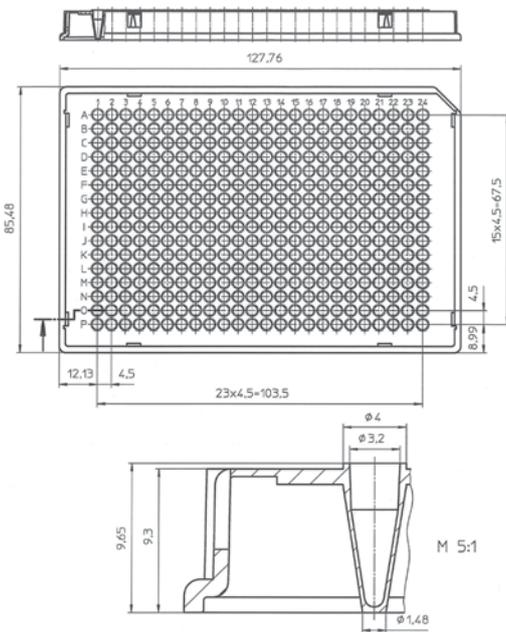
### Propriedades e vantagens:

- Fácil de recortar, caso o volume de amostra seja pequeno ou se forem necessários formatos de 24 ou 48 poços.
- Paredes dos poços extremamente uniformes e finas permitem uma transferência térmica consistentemente homogênea e com a maior rapidez possível. Dessa maneira, é possível garantir resultados confiáveis e altamente reproduzíveis.
- As dimensões em conformidade com o padrão ANSI permitem a utilização em sistemas automatizados.
- A borda elevada à volta de cada poço protege contra contaminações cruzadas e permite uma vedação segura usando filmes, protegendo também contra perdas por evaporação.
- Uma inscrição alfanumérica em preto facilita a identificação das amostras e o rastreamento no caso de enchimento manual.
- A produção em condições de sala limpa e testes biológicos realizados de forma independente permitem a certificação de pureza excepcional PCR Performance Tested.
- Possibilidade de empilhar de forma fácil e segura para aproveitar eficientemente um espaço de armazenamento limitado.

Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.:
Placa PCR de 96 poços sem borda	transparente		20 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1977.202
Placa PCR de 96 poços sem borda	branca (otimizado para qPCR)		20 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1977.232



## Placas PCR de 384 poços



### Informações do produto:

Perfil: . . . . . Low Profile

Volume máximo do poço: . . . . . 40 µl

Canto recortado: . . . . . A24 ou A24 e P24

### Propriedades e vantagens:

- Paredes dos poços extremamente uniformes e finas permitem uma transferência térmica consistentemente homogênea e com a maior rapidez possível. Dessa maneira, é possível garantir resultados confiáveis e altamente reproduzíveis.
- As dimensões em conformidade com o padrão ANSI permitem a utilização em sistemas automatizados.
- A borda elevada à volta de cada poço protege contra contaminações cruzadas e permite uma vedação segura usando filmes, protegendo também contra perdas por evaporação.
- Uma inscrição alfanumérica em preto facilita a identificação das amostras e o rastreamento no caso de enchimento manual.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos realizados de forma independente permitem a certificação de pureza excepcional PCR Performance Tested.

Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.:
Placa PCR de 384 poços com borda	transparente		25 unidades/pacote e 50 unidades/caixa	72.1984.202
Placa PCR de 384 poços com borda	branca (otimizado para qPCR)		50 unidades/pacote e 100 unidades/caixa	72.1985.202

# Placas PCR Multiply® – Tabela de compatibilidade

Quantidade de poços	96	96	96	96	96	384
Meia borda/Borda completa	sem	sem	Meia	Completa	Meia	Completa
Perfil	High	High	High	Low	Low	-
Ref. placas PCR	72.985	72.1978 72.1978.010	72.1979 72.1979.010 72.1979.003 72.1979.201 72.1979.700 72.1979.102 72.1979.132	72.1980 72.1980.010 72.1980.201 72.1980.600 72.1980.700	72.1981 72.1981.010	72.1984.202

## Amersham Biosciences® / GE Healthcare®

MegaBACE 500/1000 DNA Analysis System



MegaBACE 4000 DNA Analysis System



## Analytik Jena®/Biometra®

FlexCycler<sup>2</sup> 96 poços

qTOWER 2.0/2.2 SP

SpeedCycler<sup>2</sup> 96 poços SP & SPR

TAdvanced



TOne



TOptical



TRobot 96 poços



TRobot 384 poços



Família TProfessional 96 poços (exceto TRIO)



Família TProfessional 384 poços (exceto TRIO)



## Applied Biosystems®/Life Technologies®

GeneAmp<sup>®</sup> 2700, 2720GeneAmp<sup>®</sup> 7500 / 5700GeneAmp<sup>®</sup> 9600GeneAmp<sup>®</sup> 9700GeneAmp<sup>®</sup> 9800 FAST Block

PE 2700



PE 9600



PE 9700

Prism<sup>®</sup> 2720Prism<sup>®</sup> 7000 / 7700Prism<sup>®</sup> 7300 / 7500Prism<sup>®</sup> 7500 FastPrism<sup>®</sup> 7900HTPrism<sup>®</sup> 7900 FastPrism<sup>®</sup> 7900HT Fast

QuantStudio™ (3, 5, 6, 7 &amp; 12)



StepOne Plus™

Veriti<sup>®</sup> 96 poços / 384 poçosVeriti<sup>®</sup> Fast 96 poços

ViiA7™



310 Genetic Analyser



3100 / 3130 Genetic Analyser



3500 / 3500XL Genetic Analyser



3700 / 3730 / 3730XL Genetic Analyser



## PeqLab®

peqSTAR 96



peqSTAR 384



## Thermo Fisher Scientific®

MultiBlock System



PCR Sprint



Legenda: = recomendado = nenhum teste realizado

\* com adaptador indicado de ABI

A tabela de compatibilidade representa uma recomendação de utilização para os produtos indicados. Chamamos a atenção para o fato de os artigos não serem testados por nós rotineiramente em termos de compatibilidade com os aparelhos indicados. Esta não é uma característica garantida do produto.

Quantidade de poços	96 pré-carregados	96	96	96	96	384	96	384
Meia borda/Borda completa	sem	sem	Meia	Completa	Meia	Completa	Meia	Completa
Perfil	High	High	High	Low	Low	-	"Lightcycler"	"Lightcycler"
Ref. placas PCR	72.985	72.1978 72.1978.010	72.1979 72.1979.010 72.1979.003 72.1979.201 72.1979.700 72.1979.102 72.1979.132	72.1980 72.1980.010 72.1980.201 72.1980.600 72.1980.700	72.1981 72.1981.010	72.1984.202	72.1982.202	72.1985.202

#### BioRad®/MJ Research®

CFX96 Touch™ Real-Time PCR				●				
CFX384 Touch™ Real-Time PCR						●		
CFX Automation System II								
T100™ Thermal Cycler	●	●		●	●			
S1000™ Thermal Cycler		●	●	●		●		
C1000Touch™ Thermal Cycler		●	●	●	●	●		
iCycler iQ™ Thermal Cycler	●	●	●					
iQ4™ Thermal Cycler	●	●	●					
iQ5™ Thermal Cycler	●	●	●					
MyCycler™ Thermal Cycler	●	●	●					
Chromo4™		●		●				
Opticon™, Opticon2™				●				
BaseStation™				●				

#### Corbett Research® / Qiagen®

Palm Cycler 96 poços		●						
Palm Cycler 384 poços				●				

#### Eppendorf®

Mastercycler® nexus	●	●						
Mastercycler® ep realplex		●	●			●		
Mastercycler® gradient	●	●		●				
Mastercycler® ep gradient	●	●	●	●				
Mastercycler® pro	●	●		●				

#### Ericom®

Deltacycler			●	●				
SingleBlock			●	●				
TwinBlock			●	●				

#### MWG®

Primus 96 poços		●		●				
Primus 384 poços						●		
The Q-Lifecycler		●	●	●				

#### Roche®

Lightcycler® 96 System							●	
Lightcycler® 480 System							●	●

#### Stratagene®/Agilent®

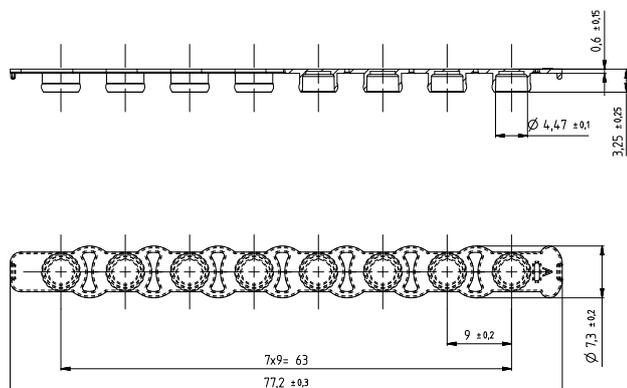
Sistema PCR em tempo real AriaMx				●	●			
Mx3000P™	●	●						
Mx3005P™	●	●	●	●				
Mx4000™	●	●	●					
Gradient Cycler		●		●				
Robocycler 384 poços							●	

#### Techné®

Cyclogene		●		●				
Flexigene		●	●	●				
Genius/Genius Quad		●	●	●				
OMN-E		●	●	●				
PCR Express	●	●	●				●	
Primus 96		●						
Px2 / PxE		●	●				●	
Quantica			●	●				
TC412 / TC512		●		●			●	
Touchgene/Touchgene Gradient		●	●	●	●			



## Cadeias de tampas para PCR



### Propriedades e vantagens:

- Indicadas para o fechamento de placas e cadeias PCR.
- Cadeias de tampas altamente transparentes, otimizadas para PCR em tempo real e outras aplicações à base de fluorescência.
- Cadeias de tampas e placas ou cadeias PCR compatíveis entre si garantem um fechamento hermético.
- Orientação fácil, graças à identificação do sentido nas extremidades das cadeias de tampas.
- Compatibilidade universal das cadeias de tampas, tanto com cadeias PCR quanto com placas PCR.
- A produção em condições de sala limpa e testes biológicos realizados de forma independente permitem as certificações de pureza excepcionais PCR Performance Tested e Biosphere® plus.

**Sugestão:**  
Para o armazenamento de amostras em placas PCR, recomendamos usar as cadeias de tampas para facilitar a abertura e o refechamento.

Designação	Cor	Pureza	Indicado para	Embalagem	Ref.:
Cadeias de tampas para PCR	Altamente transparentes		72.1978 72.1978.010 72.1979 72.1979.010 72.1979.003 72.1979.201 72.1979.700 72.1980 72.1980.010 72.1980.201 72.1980.600 72.1980.700 72.1981 72.1981.010 72.985.002 72.985.092 72.985.992	12 unidades/pacote e 240 unidades/caixa	65.989
Cadeias de tampas para PCR	Altamente transparentes		72.1979.102 72.1979.132 72.1982.202	120 unidades/pacote e 480 unidades/caixa	65.989.002
Cadeias de tampas para PCR	transparente		72.1979.102 72.1979.132 72.1982.202	12 unidades/pacote e 1.200 unidades/caixa	65.1998.400

## Filmes adesivos de vedação

As microplacas de polipropileno, poliestireno e policarbonato devem ser hermeticamente seladas com filmes adesivos adequados para evitar evaporação e proteger as amostras durante o uso, armazenamento e transporte.

Estão disponíveis vários filmes adesivos SARSTEDT especialmente desenvolvidos para os altos requisitos de PCR, armazenamento de substâncias ativas e high throughput screening. Todos os filmes são produzidos em sala limpa para evitar a contaminação com DNases/RNases e ácidos nucleicos.



### Filme adesivo altamente transparente para PCR quantitativo em tempo real (qPCR) • REF 95.1999

Os filmes finos de 50 µm são revestidos com um adesivo transparente e sem riscos que adere fracamente à temperatura ambiente. Isso simplifica o manuseio. Uma adesão forte só ocorre quando o filme é pressionado e leva a menores perdas por evaporação.

- Filme altamente transparente feito sob medida para PCR em tempo real (qPCR) e outras aplicações baseadas em fluorescência.
- Vedação segura com adesivo inovador.
- Sem adesão às luvas ao aplicar o filme
- Proteção ideal da amostra através do adesivo encapsulado



### Filme adesivo transparente para PCR quantitativo em tempo real (qPCR) • REF 95.1993

O filme consiste em uma folha fina de poliéster transparente de 50 µm de espessura, que é revestido com uma fina camada de adesivo.

- Alta transparência
- Alta proteção contra a evaporação



### Filme adesivo transparente para PCR • REF 95.1994

Filme ópticamente transparente para PCR

- Ideal para armazenar materiais de amostra até -70°C.
- Extremamente robusto e resistente



## Resistente e transparente para armazenamento de amostras • REF 95.1992



- Ideal para armazenamento de amostras até -80°C
- Filme removível
- Alta resistência a solventes como DMSO

## Filme de alumínio adesivo para PCR e armazenamento de amostras • REF 95.1995



O filme de alumínio, de 38 um de espessura, é robusto, resistente ao calor e perfurável; e é caracterizado por um alto nível de proteção contra a evaporação e alta resistência a solventes. As tiras de aplicação laterais perfuradas podem ser facilmente removidas após a aplicação.

- O filme de alumínio é facilmente perfurável com ponteiros de pipeta.
- Ideal para armazenar material de amostra/substâncias ativas até -70°C.

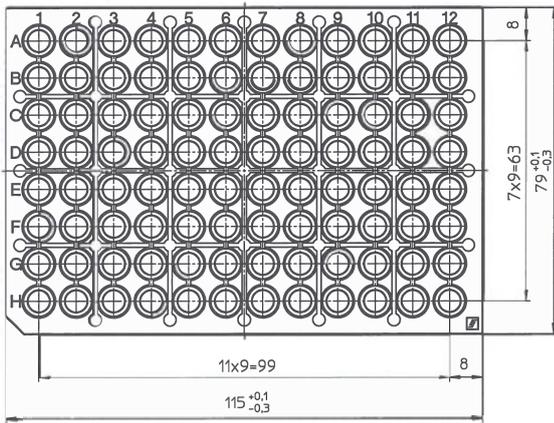
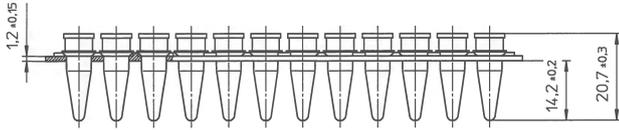
Descrição do produto	Aplicação	Propriedades especiais	Óptico	Perfurável	Faixa de temperatura funcional	Embalagem	Número do pedido
Filme adesivo para qPCR altamente transparente	qPCR, análise de fluorescência	Altamente transparente, adesivo termossensível, taxas de evaporação muito baixas	+	não	-80°C a 100°C	100 filmes/caixa interna	95.1999
Filme para PCR transparente	PCR, qPCR	Material fino, alta clareza ótica	+	não	-40°C a 120°C	100 filmes/caixa interna	95.1993
Filme para PCR Transparente	PCR, armazenamento de amostras	Forte poder adesivo, alta resistência química	+	não	-70°C a 105°C	100 filmes/caixa interna	95.1994
Filme adesivo de alumínio	Armazenamento de amostras, PCR	Perfurável, proteção contra luz para amostras, alta resistência química	-	sim	-70°C a 105°C	100 filmes/caixa interna	95.1995
Filme de vedação transparente	Armazenamento de amostras, PCR	Extremamente robusto, taxas de evaporação mais baixas	+	não	-80°C a 120°C	100 filmes/caixa interna	95.1992

### Qual filme é o certo para a minha aplicação?

Aplicação	Especificação para aplicação	Produto perfeito	Perfurável	Removível
PCR e PCR em tempo real (qPCR)	maior transparência e segurança da amostra (adesivo encapsulado)	95.1999	não	sim
	excelente transparência e adesivo padrão	95.1993	não	sim
	Transparência padrão e segurança para amostras	95.1994	não	sim
Ensaio baseado em fluorescência e luminescência	maior transparência e segurança da amostra (adesivo encapsulado)	95.1999	não	sim
	excelente transparência e adesivo padrão	95.1993	não	sim
Armazenamento de amostras	Armazenamento de amostras sensíveis à luz	95.1995	sim	médio
	Armazenamento de amostras padrão -80°C	95.1992	não	sim
Proteção contra a evaporação (PCR)	Transparência padrão e segurança para amostras	95.1992	não	sim



## Pré-carregamento prático – a alternativa para placas PCR de 2 componentes com quadro de policarbonato



### Informações do produto:

Perfil: ..... High Profile  
 Volume máximo do poço: ..... 0,2 ml

**12 cadeias PCR pré-carregadas em bandeja de trabalho de PCR com certificação de pureza máxima**

### Propriedades e vantagens:

- Versão Biosphere® plus, embalagem individual esterilizada
- Fechamento possível com cadeia de tampas altamente transparente REF 65.989
- Quadro de policarbonato
- Utilização possível no sistema de racks (ver página 37)



Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.:
Cadeias PCR de 96 poços em bandeja de trabalho	transparente		Embalagem individual em pacote e 20 unidades/caixa	72.985
Cadeia de tampas PCR, Biosphere® plus	Altamente transparentes		12 unidades/pacote e 240 unidades/caixa	65.989



## Cadeias PCR com cadeia de tampas separada



### Informações do produto:

Perfil: . . . . . High Profile  
 Volume máximo do poço: . . . . . 0,2 ml

### Propriedades e vantagens:

- Cadeias de tampas e cadeias PCR compatíveis entre si, a fim de garantir um fechamento hermético.
- Sem torcer, dobrar ou quebrar – hastes de ligação reforçadas impedem que as cadeias PCR fiquem pendendo.
- Orientação fácil, graças à identificação do sentido nas extremidades das cadeias de tampas (saliência de um lado).
- Paredes dos poços extremamente uniformes e finas permitem uma transferência térmica consistentemente homogênea e com a maior rapidez possível. Dessa maneira, é possível garantir resultados confiáveis e altamente reproduzíveis.
- Compatibilidade universal das cadeias de tampas, tanto com cadeias PCR quanto com placas PCR.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos realizados de forma independente permitem as certificações de pureza excepcionais PCR Performance Tested e Biosphere® plus.

Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.:
Cadeia PCR de 8 poços sem tampa acoplada	transparente		120 unidades/pacote e 480 unidades/caixa	72.985.002
Cadeia PCR de 8 poços sem tampa acoplada	branca (otimizado para qPCR)		120 unidades/pacote e 480 unidades/caixa	72.985.092
Cadeia PCR de 8 poços sem tampa acoplada	cores misturadas (vermelho, verde, azul, lilás)		respectivamente 120 unidades de uma cor/pacote e 480 unidades/caixa	72.985.992
Cadeia de tampas altamente transparente	transparente		120 unidades/pacote e 480 unidades/caixa	65.989.002

Outras cores possíveis a pedido.

## Cadeias PCR com cadeia de tampas separada

### Informações do produto:

Perfil: . . . . . Low Profile

Volume máximo do poço: . . . . . 0,1 ml



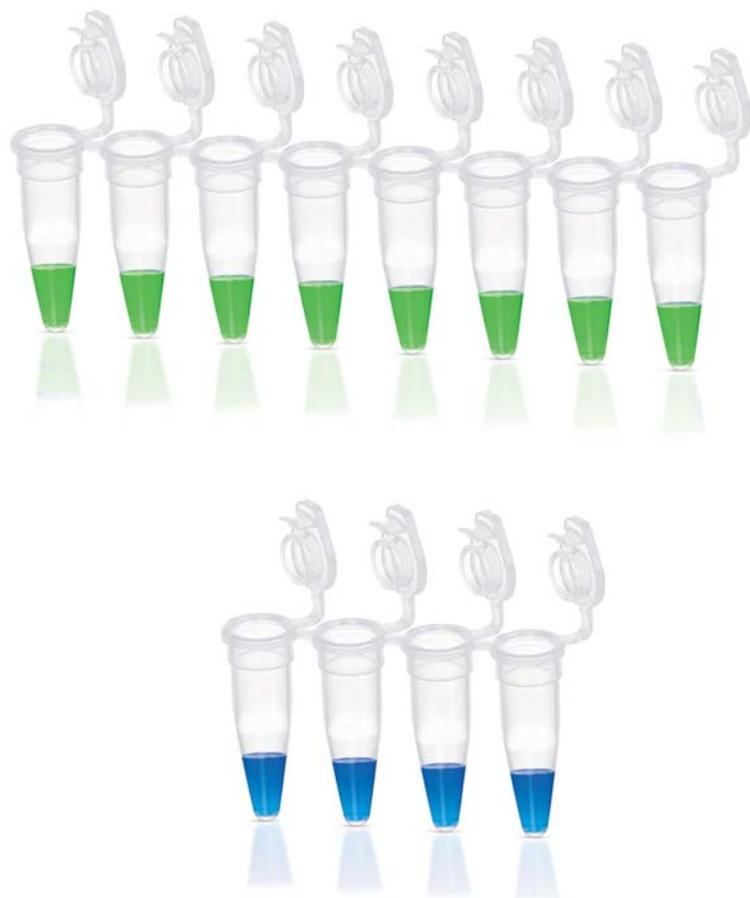
### Propriedades e vantagens:

- Cadeias de tampas e cadeias PCR compatíveis entre si, a fim de garantir um fechamento hermético.
- Paredes dos poços extremamente uniformes e finas permitem uma transferência térmica consistentemente homogênea e com a maior rapidez possível. Dessa maneira, é possível garantir resultados confiáveis e altamente reproduzíveis.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos realizados de forma independente permitem a certificação de pureza excepcional PCR Performance Tested.
- Embalagem combinada, incluindo cadeia de tampas.



Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.:
Cadeia PCR de 8 poços sem tampa acoplada	transparente		respectivamente 125 unidades/pacote e 1.250 unidades/caixa	72.982.002
Cadeia PCR de 8 poços sem tampa acoplada	branca (otimizado para qPCR)		respectivamente 125 unidades/pacote e 1.250 unidades/caixa	72.982.092

## Cadeias PCR com tampas acopladas



### Informações do produto:

Perfil: ..... High Profile  
 Volume máximo do poço: ..... 0,2 ml

### Propriedades e vantagens:

- Maior segurança sem comprometer o manuseio – a proteção anticontaminação integrada impede o contato acidental com a superfície interna da tampa.
- Sem torcer, dobrar ou quebrar
- Hastes de ligação reforçadas impedem que as cadeias PCR fiquem pendendo.
- Tampa plana com grande espaço para escrever.
- Paredes dos poços extremamente uniformes e finas permitem uma transferência térmica consistentemente homogênea e com a maior rapidez possível. Dessa maneira, é possível garantir resultados confiáveis e altamente reproduzíveis.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos realizados de forma independente permitem as certificações de pureza excepcionais PCR Performance Tested e Biosphere® plus.

Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.:
Cadeia PCR de 8 poços com tampas acopladas	transparente		120 unidades/pacote e 480 unidades/caixa	72.991.002
Cadeia PCR de 8 poços com tampas acopladas	cores misturadas (vermelho, verde, azul, lilás)		respectivamente 120 unidades de uma cor/pacote e 480 unidades/caixa	72.991.992
Cadeia PCR de 4 poços com tampas acopladas	transparente		120 unidades/pacote e 480 unidades/caixa	72.990.002
Cadeia PCR de 4 poços com tampas acopladas	transparente		50 unidades/pacote e 400 unidades/caixa	72.990
Cadeia PCR de 4 poços com tampas acopladas	cores misturadas (vermelho, verde, azul, lilás)		respectivamente 120 unidades de uma cor/pacote e 480 unidades/caixa	72.990.992

### Cadeias PCR Low Profile (0,1 ml) com tampas acopladas

Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.:
Cadeia PCR de 8 poços com tampas acopladas	transparente		12 unidades/pacote e 1.200 unidades/caixa	72.991.103



## Recipiente individual PCR com tampa acoplada



### Informações do produto:

Perfil: . . . . . High Profile

Volume máximo do poço: . . . . . 0,2 ml e 0,5 ml



### Propriedades e vantagens:

- Maior segurança sem comprometer o manuseio – a proteção anticontaminação integrada impede o contato acidental com a superfície interna da tampa.
- Recipiente de 0,5 ml adequado para o uso com fluorímetro Qubit™
- Tampa plana com grande espaço para escrever.
- Paredes dos poços extremamente uniformes e finas permitem uma transferência térmica consistentemente homogênea e com a maior rapidez possível. Dessa maneira, é possível garantir resultados confiáveis e altamente reproduzíveis.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos realizados de forma independente permitem as certificações de pureza excepcionais PCR Performance Tested e Biosphere® plus.

**Sugestão:**  
A princípio, o bloco do ciclador sempre deve ser cheio simetricamente para permitir uma distribuição regular da pressão da tampa do ciclador sobre os recipientes de PCR, bem como para obter uma distribuição mais homogênea do calor.

Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.:
Recipiente individual de PCR de 0,2 ml com tampa acoplada	transparente		500 unidades/pacote e 2.000 unidades/caixa	72.737.002
Recipiente individual de PCR de 0,2 ml com tampa acoplada	transparente		250 unidades/pacote e 2.000 unidades/caixa	72.737
Recipiente individual de PCR de 0,2 ml com tampa acoplada	cores misturadas (vermelho, laranja, verde, azul, lilás, amarelo)		respectivamente 500 unidades de uma cor/pacote e 3.000 unidades/caixa	72.737.992
Recipiente individual de PCR de 0,5 ml com tampa acoplada	transparente		500 unidades/pacote e 2.000 unidades/caixa	72.735.002
Recipiente individual de PCR de 0,5 ml com tampa acoplada	transparente		100 unidades/pacote e 1.000 unidades/caixa	72.735.100
Recipiente individual de PCR de 0,5 ml com tampa acoplada	cores misturadas (vermelho, laranja, verde, azul, lilás, amarelo)		respectivamente 500 unidades de uma cor/pacote e 3.000 unidades/caixa	72.735.992

## Sistemas inteligentes de racks e pipetagem

### Refrigeração confiável de suas amostras valiosas – Rack IsoFreeze® PCR

Muitas vezes, a preparação de amostras requer uma refrigeração contínua e confiável das amostras. Por isso, a SARSTEDT oferece o rack IsoFreeze® PCR: uma estação de pipetagem e armazenamento com controle de temperatura confiável para aplicações sensíveis à temperatura.

### Propriedades e vantagens:

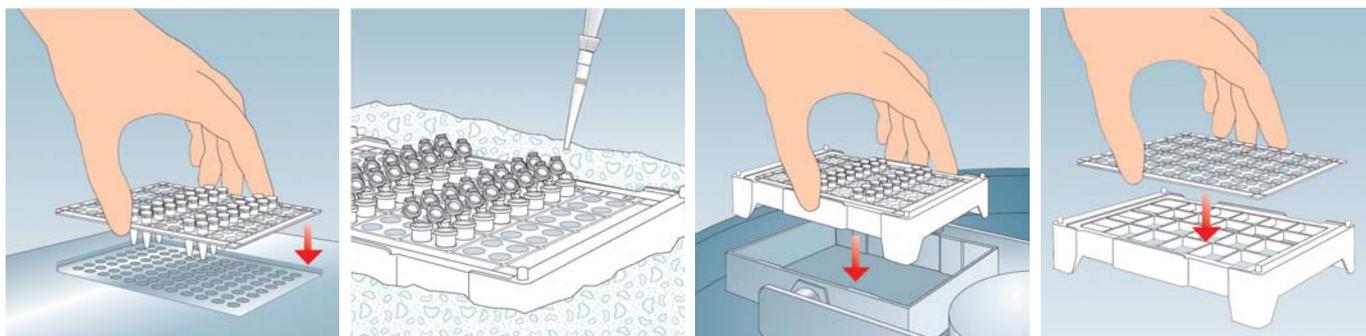
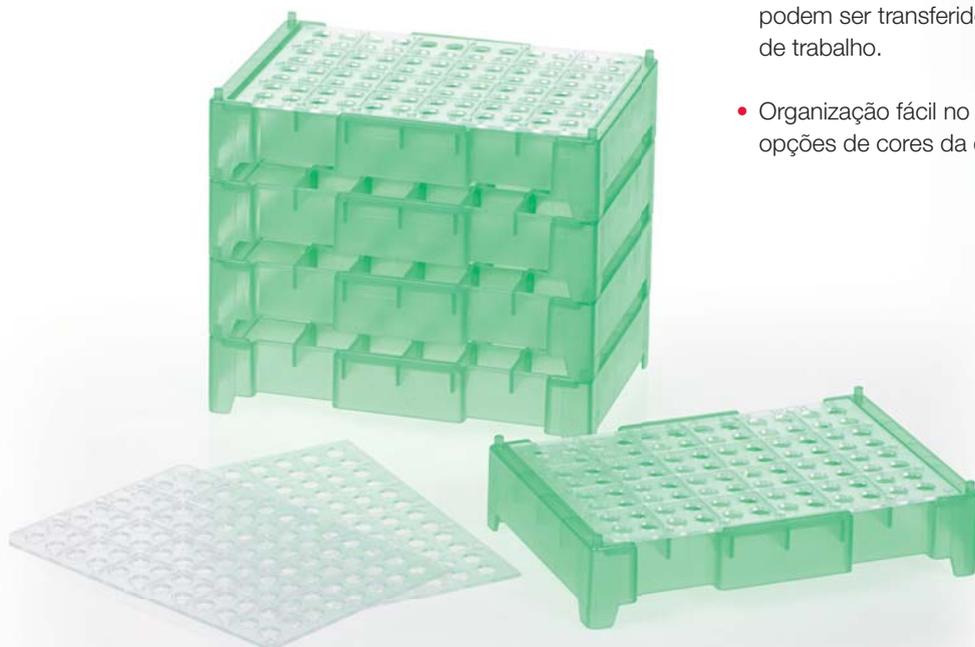
- Mudança visível da cor, de lilás para rosa, ao sair do intervalo de temperatura ideal (a partir de 7 °C).
- Risco mínimo de contaminação, já que é possível evitar o uso de gelo no armazenamento das amostras.
- A uma temperatura ambiente normal, a temperatura das amostras é mantida no intervalo ideal durante até 3 horas (com a tampa colocada).
- Formato 8 x 12 para placas, cadeias e recipientes individuais para PCR de 0,1 ml e 0,2 ml, ou formato 6 x 4, adequado para recipientes de reação de 1,5 ml e 2 ml

Designação	Cor	Embalagem	Ref.:
Rack IsoFreeze® PCR	Formato de 96 poços	2 unidades/caixa	95.984
Rack IsoFreeze® MCT	Formato de 24 poços	1 unidades/caixa	95.983



## Sistema de racks SARSTEDT – A estação flexível de armazenamento e pipetagem

- Sistema flexível de 2 componentes, com bandeja de trabalho e estação de base
- Economia de tempo no manuseio de cadeias de PCR e recipientes individuais, uma vez que esses componentes podem ser transferidos para o termociclador com a bandeja de trabalho.
- Organização fácil no laboratório, graças às diferentes opções de cores da estação de base



Designação	Cor	Ref.:
Bandeja de trabalho de 96 poços	5 unidades/pacote	95.987.002
Estação de base transparente	5 unidades/caixa	95.988
Estação de base vermelha	5 unidades/caixa	95.988.001
Estação de base azul	5 unidades/caixa	95.988.002
Estação de base verde	5 unidades/caixa	95.988.003
Estação de base amarela	5 unidades por caixa	95.988.004

## Dicas/diretrizes para reações PCR bem sucedidas

### Recomendações gerais

- Para evitar a degradação, armazene o DNA sempre em tampão Tris-EDTA (pH 8) e não em água.
- Utilize pontas de pipeta com filtro e use luvas para evitar contaminações (cruzadas).
- Evite realizar a pipetagem de misturas de reação em câmaras de fluxo laminar ventiladas, pois isso aumenta o risco de contaminações cruzadas.
- Realize a pipetagem de misturas de reação em um local limpo e que seja usado para o menor número possível de outras aplicações com métodos biomoleculares.
- Durante a pipetagem da mistura de reação, adicione a polimerase de DNA como último componente.
- Evite descongelar e congelar novamente os nucleotídeos (dNTPs) várias vezes, pois isso pode destruí-los. Recomendamos alíquotar nucleotídeos (e primers) e armazenar as alíquotas a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- Para a amplificação, calcule um minuto de tempo de elongação a cada 1 kb de DNA molde.
- Utilize consumíveis certificados como isentos de DNA, DNase/RNase e como isentos de inibidores de PCR e evite a autoclavagem de consumíveis antes da utilização, pois nesta etapa existe o risco de contaminar os produtos com biomoléculas indesejadas.
- Somente exponha os produtos de PCR à luz ultravioleta o mais rapidamente possível ao separá-los do gel, a fim de evitar erros na sequência de DNA.

### Diretrizes para a utilização do DNA molde

- Para atingir a detecção do produto PCR em 25 – 30 ciclos são necessárias aprox. 100 cópias de molde. Utilize, pelo menos, 40 ciclos, se for provável que existam somente menos de 10 cópias do DNA molde.
- Regra de ouro: Ao utilizar DNA plasmídeo, utilize concentrações de molde de 1 pg – 1 ng e, ao utilizar DNA genômico, concentrações de 1 ng – 1 µg. Concentrações de molde mais elevadas reduzem a especificidade da reação e, assim, aumentam a ocorrência de produtos de PCR não específicos.
- Verifique a pureza do DNA molde por fotometria (o quociente 260 nm/280 nm deve ser maior ou igual a 1,8), para garantir que o molde não esteja contaminado com inibidores de PCR, e use um kit de isolamento de DNA ou realize precipitação com etanol, se for detectada contaminação.
- Se necessário, realize uma eletroforese em gel para verificar se o DNA molde sofreu degradação.

### Diretrizes para a utilização de primer

- Regra de ouro: Utilize uma concentração de primer final de 0,05 – 1 µM por primer. Concentrações de primer mais elevadas aumentam a ocorrência de produtos de PCR não específicos devido à ligação não específica do primer. Muitas vezes, uma concentração de 0,2 µM por primer na reação final é o ideal.
- Os primers devem ter, preferencialmente, um comprimento entre 20 e 30 nucleotídeos.
- A concentração ideal de GC dos primers deve estar entre 40% e 60% e as moléculas de GC devem estar distribuídas uniformemente ao longo do comprimento do primer. Para otimizar a amplificação de produtos PCR com concentração elevada de GC é possível adicionar DMSO à mistura de reação. Se necessário, ao utilizar aditivos como DMSO, por exemplo, a temperatura de anelamento deve ser ajustada, pois altas concentrações podem enfraquecer a ligação do primer. Neste caso, utilize a menor concentração possível e não ultrapasse 10% na mistura do experimento.
- As temperaturas de anelamento ( $T_m$ ) do par de primers usado não devem ter mais de 5 °C de diferença entre elas e devem se encontrar dentro de um intervalo de temperatura de 50 °C até 72 °C.
- Utilize uma temperatura de anelamento que esteja 0 a 5 °C abaixo da  $T_m$  calculada do primer com a menor  $T_m$ .

## Lista de verificação de resolução de problemas de PCR

Problema	Possíveis causas	Solução
<b>Nenhum produto de amplificação</b>	Inibidores de PCR na mistura de reação	Utilize consumíveis que sejam certificados como isentos de DNA, isentos de DNase/RNase e isentos de inibidores de PCR. Verifique a pureza do DNA molde por fotometria para obter uma indicação se o molde está contaminado com inibidores de PCR (fenol, proteinase K, K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , etc.). Caso o quociente 260 nm/280 nm seja menor que 1,8, utilize um kit de descontaminação de DNA ou realize uma precipitação com etanol para eliminar os possíveis inibidores de PCR existentes. Dilua o molde (e, assim, os inibidores de PCR) e aumente a concentração de DNA polimerase como alternativa.
	Degradação do molde PCR	Realize uma eletroforese em gel para verificar se o molde PCR sofreu degradação. Realize um novo isolamento do molde, caso tenha encontrado indícios de degradação de um DNA inicial (esfregação de DNA, fita muito pequena, etc.). Minimize o cisalhamento do DNA durante o isolamento. Para evitar a degradação, armazene o DNA molde em tampão Tris-EDTA (pH 8).
	Condições de reação não ideais	Possivelmente, uma temperatura de anelamento muito alta, um tempo de desnaturação muito longo ou um número de ciclos muito baixo foi usado. Otimize a temperatura de anelamento reduzindo-a gradualmente em incrementos de 1-2 °C, realize a desnaturação do DNA inicial por 3 minutos (tempos de desnaturação muito longos podem degradar o DNA) e por 30 segundos durante os ciclos de reação e/ou acrescente 5 ciclos.
	Componentes esquecidos na mistura de reação	Repita a PCR
<b>Produtos de amplificação não específicos</b>	Reagentes contaminados (por ex., água)	Os reagentes de PCR (frequentemente, a água usada) podem ter sido contaminados acidentalmente durante as pipetagens anteriores. Utilize reagentes de PCR frescos.
	Condições de reação não ideais	Possivelmente, uma temperatura de anelamento muito baixa, um número de ciclos muito alto ou um tempo de extensão muito longo foi utilizado. Temperaturas de anelamento muito baixas promovem uma ligação não específica do primer. Através de um gradiente de temperatura, tente determinar a melhor temperatura de anelamento, que cria o produto de PCR mais puro. Em alguns casos, números de ciclo muito altos também levam à amplificação de produtos de PCR não específicos. Em caso de ocorrência de produtos de PCR não específicos, experimente retirar 5 ciclos. Tempos longos de elongação também promovem uma amplificação não específica. Cumpra o tempo de elongação mais preciso possível, de acordo com o tamanho do produto de PCR (para a amplificação, as polimerases Taq requerem aproximadamente um minuto de tempo de extensão para cada 1 kb de DNA molde).
	Excesso de Mg <sup>2+</sup> na mistura de reação	Concentrações muito altas de Mg <sup>2+</sup> aumentam a probabilidade de ocorrer uma ligação não específica do primer e, assim, uma formação de produtos de PCR indesejados. Neste caso, reduza a quantidade usada de Mg <sup>2+</sup> .
	Degradação do molde PCR	Realize uma eletroforese em gel para verificar se o molde PCR sofreu degradação. Realize um novo isolamento do molde, caso tenha encontrado indícios de degradação de um DNA inicial (esfregação de DNA, fita muito pequena, etc.). Minimize o cisalhamento do DNA durante o isolamento. Para evitar a degradação, armazene o DNA molde em tampão Tris-EDTA (pH 8).

## SARSTEDT Ltda.

Rodovia Marechal Rondon, km 126

Avecuia

CEP 18546-030

Porto Feliz – SP

Tel: +55 11 4152 2233

info.br@sarstedt.com

www.sarstedt.com

# Workflow de diagnóstico molecular da SARSTEDT

Aproveite as vantagens dos nossos consumíveis coordenados!

O fluxo de trabalho de diagnóstico molecular on-line



molecular-workflow.sarstedt.com

