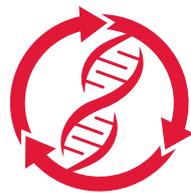


PCR e Biologia Molecular

Produtos de qualidade certificados para (q)PCR



**Molecular
Diagnostic
Workflow**





Desde 1961 que a SARSTEDT desenvolve e produz produtos de alta qualidade para a medicina e a ciência.

Descubra a nossa vasta gama de produtos nas páginas seguintes e obtenha também preciosas dicas para otimizar ainda mais o processo de PCR.

Para assegurar a qualidade consistentemente elevada dos nossos produtos, contamos com:

- ✓ Construção bem pensada de artigos e ferramentas para espessuras de parede uniformes
- ✓ Seleção de matérias-primas de alta qualidade (p. ex., materiais de qualidade médica)
- ✓ Produção automatizada em condições de sala limpa
- ✓ Controlos de qualidade extensivos (p. ex., testes de estanqueidade a 100%)
- ✓ Sistema de gestão da qualidade certificado ISO 13485
- ✓ Colaboradores com excelente formação

Juntos alcançamos a nossa excelente qualidade de produto "Made in Germany".

Além da nossa gama standard, oferecemos também produtos de alto desempenho fabricados de acordo com os mais recentes avanços tecnológicos, p. ex., para alcançar propriedades de Low Binding para determinadas biomoléculas ou para apresentar constantemente os mais altos graus de pureza. Para pedidos especiais, também produzimos produtos personalizados. Não hesite em contactar-nos diretamente se estiver interessado.

A sua equipa **SARSTEDT**

Conteúdo

Começar já – com a mais elevada pureza!	4
A qualidade dos plásticos para PCR é importante - desempenho fiável em todas as aplicações de (q)PCR através de padrões de produção inovadores.....	4
Máxima pureza e fiabilidade para análises altamente sensíveis	
Os artigos PCR Performance Tested	5
Biosphere® plus – O nosso extra em segurança.....	5
Sensibilidade aumentada e melhor reprodutibilidade.....	6
DNA e Protein Low Binding – para a maior recuperação da amostra.....	7
Placas para PCR Multiply® da SARSTEDT – Máxima fiabilidade	
Placas para PCR com saia – Máxima eficiência e variabilidade reduzida	9
Placa para PCR com saia Protein Low Binding	11
Placas para PCR com meia saia – High Profile.....	13
Placas para PCR com meia saia – Low Profile	15
Placas para PCR sem saia – High Profile	17
Placas para PCR sem saia – Low Profile.....	19
Placas para PCR de 384 poços.....	21
Placas para PCR Multiply® – Tabela de compatibilidade.....	22-23
Tiras de tampas para PCR.....	25
Folhas adesivas de fecho.....	26
Confortavelmente pré-carregadas – A alternativa às placas de quadro de policarbonato para PCR de 2 componentes	29
Strips de PCR com tampas em separado	31
Strips de PCR com tampas em separado	32
Strips de PCR com tampa acoplada	33
Tubos individuais de PCR com tampa acoplada	35
Sistemas inteligentes de rack e pipetagem.....	36
RackSystem da SARSTEDT – A estação de armazenamento e de pipetagem flexível	37
Dicas/diretrizes para PCRs bem-sucedidas.....	38
Lista de verificação para deteção de falhas na PCR.....	39

Começar já – com a mais elevada pureza!

Condições de sala limpa, pessoal formado com vestuário de proteção e processos de produção automatizados são os requisitos básicos para os padrões de qualidade certificados da SARSTEDT.

Com controlos de qualidade elaborados, que pedimos regularmente a um laboratório independente, oferecemos consumíveis que podem ser utilizados de forma fiável sem esforço adicional.

Hoje em dia, ainda existe um pouco a prática comum de autoclavar consumíveis. Muitas pessoas confundem produtos estéreis com artigos isentos de DNA. Mas a esterilização não remove biomoléculas indesejadas, p. ex DNA, RNases

ou pirógenos. Mas o mais grave é que a autoclavagem pode contaminar os artigos. Uma separação constante de autoclaves para a esterilização de resíduos de laboratório, por um lado, e de consumíveis limpos, por outro, raramente funciona permanentemente. Na atmosfera saturada de vapor das autoclaves, plasmídeos ou RNases são facilmente transferidos dos resíduos de laboratório previamente autoclavados para os consumíveis efetivamente limpos.

Assim, evite a este trabalho adicional e arriscado e comece imediatamente a usar os nossos consumíveis certificados de alta pureza.

A qualidade dos plásticos para PCR é importante - desempenho fiável em todas as aplicações de (q)PCR através de padrões de produção inovadores

Ao longo do nosso processo de fabrico centrado na PCR, consideramos parâmetros-chave que têm um impacto na qualidade dos artigos plásticos para PCR. Isto começa com o design e construção de moldes precisos. Porque apenas ferramentas moldadas com precisão produzem artigos de plástico extremamente homogéneos cuja uniformidade dos poços minimiza a variabilidade dos dados. Os produtos são fabricados recorrendo a processos automatizados em áreas de produção de alta pureza. Realizamos procedimentos de limpeza elaborados, porque mesmo os mais ínfimos resquícios de químicos poderiam inibir a amplificação da PCR. O nosso processo de produção, da moldagem à embalagem final, é altamente automatizado em condições controladas em unidades industriais protegidas por fluxo laminar.

Para o fabrico dos artigos SARSTEDT são usadas apenas matérias-primas selecionadas da mais alta pureza e qualidade,

que cumprem uma vasta gama de diretrizes e normas internacionais (comummente designadas de grau médico). Seleccionamos apenas fornecedores que sustentam a nossa filosofia de máxima qualidade. Como é evidente, não são acrescentados aditivos, como bisfenóis ou biocidas. Todos os materiais foram cuidadosamente selecionados para a respetiva aplicação e especialmente qualificados para realçar o melhor dos nossos produtos.

Os nossos padrões de produção são sustentados por controlos de qualidade eficazes, como p. ex. testes de estanqueidade de cada poço individual ou a garantia da geometria do artigo. Em particular, a consistência da nossa qualidade, com a qual produzimos sempre espessuras de parede uniformes, dá-lhe a segurança de receber sempre resultados PCR precisos e reprodutíveis.

Máxima pureza e fiabilidade para análises altamente sensíveis

Os artigos PCR Performance Tested



A nossa certificação de pureza PCR Performance Tested foi desenvolvida especificamente para a análise do ácido nucleico. Todos os artigos com certificação PCR Performance Tested são testados por um laboratório independente e estão isentos de DNA

humano e bacteriano, de DNases e de RNases, bem como de inibidores PCR. Os testes adicionais para inibidores de PCR são importantes para nós, pois os aditivos utilizados no fabrico de consumíveis podem ter efeitos inibidores de PCR.

Também diversas substâncias que podem ser facilmente introduzidas nas suas amostras atuam como fortes inibidores de PCR. Exemplos bem conhecidos são a hemoglobina ou o etanol, frequentemente usado no isolamento dos ácidos nucleicos, por exemplo. No entanto, muitos inibidores de PCR são também largamente desconhecidos. Por exemplo, as amostras de expetoração apresentam frequentemente um efeito inibidor da PCR, embora os componentes responsáveis por isso ainda não tenham sido identificados. Os inibidores de PCR têm um efeito particularmente grave se o efeito inibitório influenciar de forma diferente os diversos genes-alvo (p. ex., se a amplificação de um gene de manutenção for mais ou menos afetada do que a amplificação de um gene de interesse analisado em paralelo). Por conseguinte, é melhor utilizar apenas consumíveis que tenham sido testados quanto à ausência de inibidores de PCR.

Ao trabalhar com o RNA, as omnipresentes RNases representam sempre um desafio. Ao contrário das DNases relacionadas, muitas RNases não exigem cofatores, como o Mg^{2+} , para estar ativas. Além disso, as RNases são muito estáveis e têm a capacidade de retornar à sua conformação original quando expostas ao calor.

Certificamos que os limites que se seguem são garantidos pelos nossos artigos PCR Performance Tested:

DNA humano	< 0,5 pg/ μ l
DNA bacteriano	< 0,02 pg/ μ l
DNase	< 1×10^{-5} U/ μ l
RNase	< 1×10^{-9} Unidades Kunitz/ μ l
Inibidores de PCR	< 0,5 ciclo
	Deslocação do valor C_t

Biosphere® plus – O nosso extra em segurança



Cada vez mais aplicações requerem uma ausência absolutamente fiável de DNA ou outras biomoléculas. Por isso, os produtos certificados Biosphere® plus são ainda submetidos a um processo de descontaminação validado. O tratamento com óxido de

etileno (EtO) destrói qualquer DNA potencialmente presente e outras biomoléculas, além de esterilizar os artigos. Outros testes relativamente à ausência de pirógenos e ATP (dica: importante nos ensaios à base de luminescência) completam a nossa certificação Biosphere® plus.

A fim de excluir de forma fiável mesmo a mais pequena contaminação, certificamos que os seguintes valores-limite dos nossos produtos certificados Biosphere® plus se mantêm garantidamente:

DNA humano	< 5,0 fg/ μ l
DNA bacteriano	< 0,2 fg/ μ l
Esterilidade validada de acordo com a norma	ISO 11135
ATP	< 1×10^{-12} mmol/ μ l
Pirógenos/endotoxinas	< 0,002 EU/ml
DNase	< 5×10^{-7} U/ μ l
RNase	< 5×10^{-11} Unidades Kunitz/ μ l
Inibidores de PCR	< 0,5 ciclo
	Deslocação do valor C_t

Sensibilidade aumentada e melhor reprodutibilidade

As aplicações à base de fluorescência, como a PCR em tempo real (qPCR), beneficiam das propriedades de reflexão significativamente melhores dos consumíveis de PCR brancos, especialmente quando se utilizam pequenos volumes. Além disso, devido à coloração opaca, a luz fluorescente já não se perde através das paredes e, devido ao reflexo do corante branco otimizado, a quantidade de luz fluorescente que chega ao detetor é mais constante do que com a utilização de produtos transparentes. Por conseguinte, ao repetir experiências ou aplicar duplicados ou triplicados, pode conseguir-se uma dispersão significativamente menor.

Devido ao maior nível de fluorescência dos consumíveis de PCR brancos e aos efeitos de fundo constantes do fluoróforo utilizado, é também conseguida uma melhor relação sinal-fundo. A deteção de luz fluorescente dispersa de poços vizinhos e, assim, no pior dos casos, uma deteção falso-positiva é também impedida pela coloração branca opaca.

No entanto, a maior vantagem dos consumíveis de PCR brancos é a grande melhoria da sensibilidade em comparação com o material transparente. A *fig. 1* mostra que, para a mesma quantidade de modelo e enzima, a intensidade de fluorescência medida é significativamente mais elevada em recipientes brancos do que em transparentes. Além disso, mesmo o valor Ct diminui de $24,87 \pm 0,08$ (transparente) para $23,40 \pm 0,07$ (branco), indicando que a deteção das 1000 moléculas de modelo em recipientes brancos ocorre mais cedo. Esta é outra grande vantagem, especialmente quando apenas estão disponíveis quantidades mínimas de material de partida.

Logo, ao passar de consumíveis de PCR transparentes para brancos, é também possível uma redução económica no volume das misturas experimentais. Assim, a quantidade de reagentes utilizados (enzima, sonda, primer, etc.) pode ser significativamente reduzida, baixando assim os custos com os reagentes.

A utilização de consumíveis de PCR brancos traz vantagens consideráveis. Por isso, não comprometa os seus resultados apenas para permitir uma inspeção visual dos poços a partir do lado ou do fundo.

Comparação do nível de fluorescência de poços brancos e transparentes

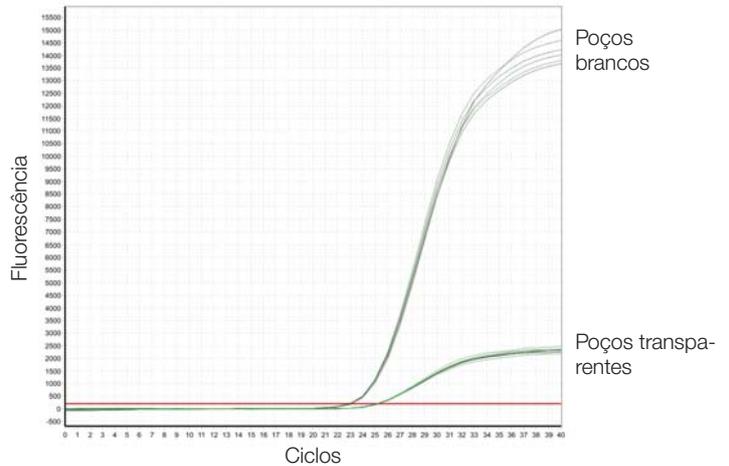


Fig. 1: Comparação do valor de fluorescência dos artigos 72.985.002 (transparente) e 72.985.092 (branco), cada um deles fechado com a cadeia de tampas altamente transparente 65.989.002. Um fragmento de 100 bp do plasmídeo EmGFP (quantidade de modelo 1000 moléculas) foi amplificado num volume de 20 µl com o termociclador Eppendorf realplex 4S (n=8).

DNA e Protein Low Binding – para a maior recuperação da amostra

Devido à tendência para volumes de amostra cada vez mais pequenos, aumenta a importância de minimizar eventuais interações dos analitos com os recipientes. A utilização crescente de consumíveis de PCR para outras aplicações também requer frequentemente a máxima recuperação de amostras. Particularmente na preparação e no armazenamento de amostras de ácido nucleico (de baixa concentração) e na preparação de séries de diluição, é dada grande importância à garantia de conseguir recuperar todas as biomoléculas dos poços.

No campo da análise de proteínas ou peptídeos na área da espectrometria de massa, onde são usados normalmente frascos de vidro e recipientes de PP comuns, a perda de peptídeos e proteínas é um fenómeno bem conhecido. A utilização de produtos Protein Low Binding permite recuperar significativamente mais proteínas ou peptídeos para análises subsequentes. As enzimas que podem ser usadas também permanecem ativas, porque a superfície dos artigos Protein Low Binding também reduz a desnaturação das enzimas

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

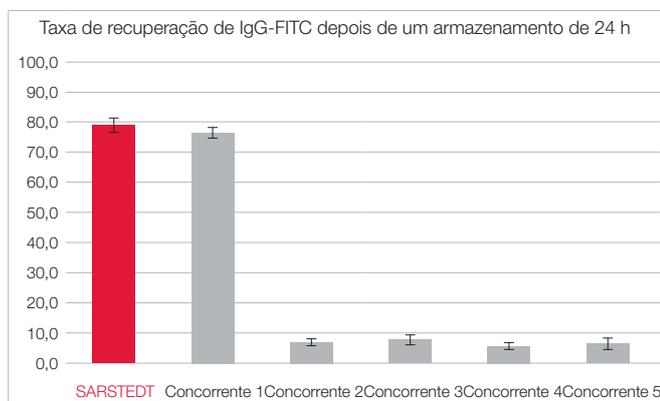


Fig. 2: 8 unidades de 125 µl de uma solução de conjugado de IgG-FITC (1,0 µg/ml em PBS; Sigma Aldrich, ref.^a F9636) foram armazenadas durante 24 horas em artigos com Protein Low Binding da SARSTEDT e em 5 artigos da concorrência. Depois da incubação, 100 µl de cada unidade foram transferidos para placas ELISA pretas (SARSTEDT, ref.^a 82.1581.220), previamente bloqueadas, durante, pelo menos, 2 h com 1 Roti-Block (Carl Roth, ref.^a A151.4) e medidas no leitor de placas Infinite 200 pro (Tecan). A experiência foi repetida em 3 dias consecutivos. Ao contrário da maioria dos produtos da concorrência testados, o armazenamento nos artigos SARSTEDT Protein Low Binding não leva a perdas significativas. Um produto da concorrência também apresentou uma elevada taxa de recuperação.

através da interação com a parede do recipiente. Assim que a concentração de proteínas cai abaixo de um nível crítico, regra geral, fica inviabilizada a análise de proteínas fiável com recipientes de reação convencionais. A utilização de produtos Protein Low Binding também proporciona a máxima fiabilidade na imunoprecipitação, na purificação ou no isolamento de proteínas e no armazenamento de amostras de proteínas, de peptídeos ou de anticorpos.

As baixas propriedades de ligação dos nossos produtos aos ácidos nucleicos ou peptídeos/proteínas resultam da utilização de matérias-primas e de um tratamento físico especiais. Obviamente que não são utilizados revestimentos com silicone ou substâncias similares para alcançar as propriedades especiais.

Oferecemos produtos fabricados de acordo com os mais recentes avanços tecnológicos com propriedades DNA Low Binding e Protein Low Binding.

DNA Low Binding – Representação comparativa das perdas de DNA:

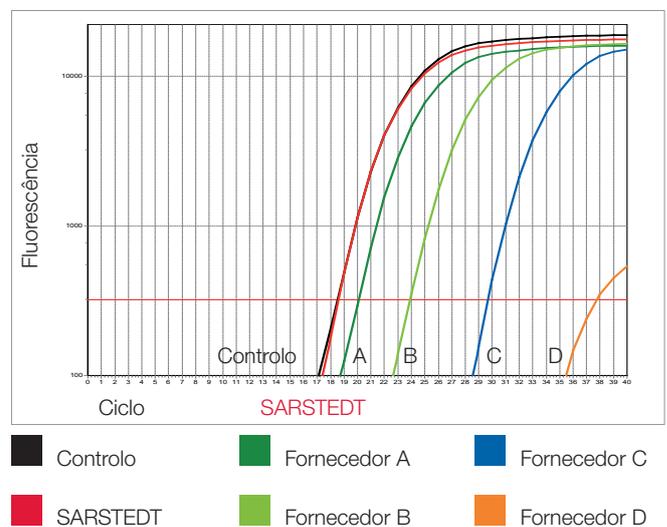


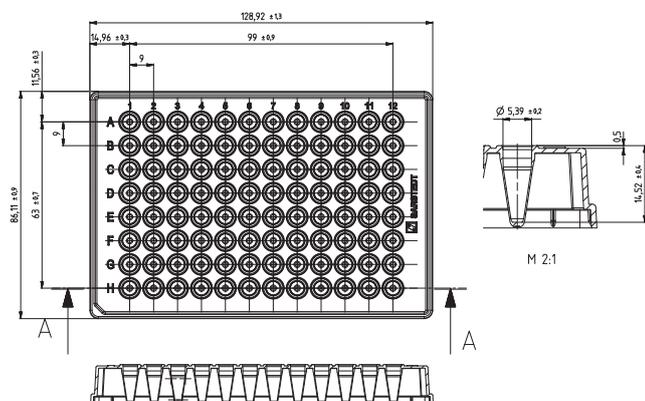
Fig. 3: Foram cheios 10 recipientes de teste para cada um de vários fornecedores com 100 µl de uma solução de DNA de plasmídeo (concentração: 104 cópias/µl) e agitados a 37 °C.

Depois do tempo de incubação de 3 horas, foi determinado o conteúdo de DNA através de PCR em tempo real. Neste diagrama, está representada, a título de exemplo, uma das 10 séries de ensaios.

Placas para PCR Multiply® da SARSTEDT – Máxima fiabilidade



Placas para PCR com saia – Máxima eficiência e variabilidade reduzida



Informações sobre o produto:

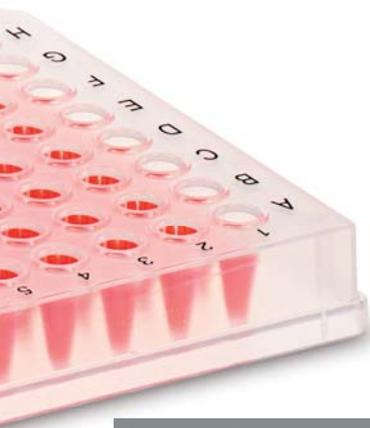
Perfil: Low Profile

Volumes de poço máximos: 0,1 ml

Canto cortado: H1

Características e vantagens:

- Paredes de poço uniformes e extremamente finas permitem uma transferência de calor homogêneo e máxima rapidez. Isto garante resultados fiáveis e altamente reproduzíveis.
- As dimensões em conformidade com ANSI permitem a utilização em sistemas automatizados.
- O rebordo elevado à volta de cada poço protege contra a contaminação cruzada, permite uma selagem segura com películas, proporcionando proteção contra perdas por evaporação.
- Uma rotulagem alfanumérica preta facilita a identificação e a rastreabilidade das amostras em caso de enchimento manual.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos conduzidos de forma independente permitem excelentes certificações de pureza PCR Performance Tested e Biosphere® plus.
- Teste de estanqueidade a 100% em cada poço, para máxima segurança das amostras.
- Fácil e seguro de empilhar para aproveitar melhor os espaços de armazenamento limitados.



Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.
Placa para PCR de 96 poços com saia	transparente		10 unidades/saco e 100 unidades/caixa	72.1980
Placa para PCR de 96 poços com saia	transparente		1 unidade/blister e 20 unidades/caixa	72.1980.201
Placa para PCR de 96 poços com saia	Branco (otimizado para qPCR)		10 unidades/saco e 100 unidades/caixa	72.1980.010
Placa para PCR de 96 poços com saia, DNA Low Binding	transparente		10 unidades/saco e 100 unidades/caixa	72.1980.700

Outras variantes de cor e com código de barras a pedido.

As cadeias de tampas e os filmes de fecho adequados encontram-se nas páginas 24-27.

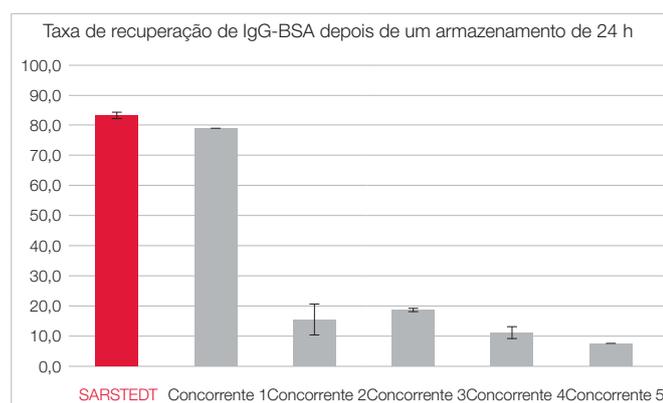




Placa para PCR com saia Protein Low Binding

No campo da análise de proteínas ou peptídeos na área da espectrometria de massa, onde são usados normalmente frascos de vidro e recipientes de PP comuns, a perda de peptídeos/proteínas é um fenómeno bem conhecido. Assim que a concentração de proteínas cai abaixo de um nível crítico, a análise com recipientes de reação convencionais deixa de ser possível. Por isso, oferecemos placas com rebordo de

96 poços Protein Low Binding para preparação de amostras, entrada de amostras e armazenamento das mais pequenas quantidades de amostras no intervalo de temperaturas negativas (-20 °C a -80 °C). Além disso, as placas são ideais para utilização em imunoprecipitação, purificação ou isolamento de proteínas e preparação ou armazenamento de amostras de proteínas, peptídeos ou anticorpos.



8x de 125 µl de uma solução de conjugado de BSA-FITC (1,0 µg/ml em PBS; ThermoFisher Scientific, ref.ª A23015) foram armazenadas durante 24 horas em artigos com Protein Low Binding da SARSTEDT e em 5 artigos da concorrência. Depois da incubação, 100 µl de cada unidade foram transferidos para placas ELISA pretas (SARSTEDT, ref.ª 82.1581.220), previamente bloqueadas, durante, pelo menos, 2 h com 1 Roti-Block (Carl Roth, ref.ª A151.4) e medidas no leitor de placas Infinite 200 pro (Tecan). A experiência foi repetida em 3 dias consecutivos. Ao contrário da maioria dos produtos da concorrência testados, o armazenamento nos artigos SARSTEDT Protein Low Binding não leva a perdas significativas. Um produto da concorrência também apresentou uma elevada taxa de recuperação.

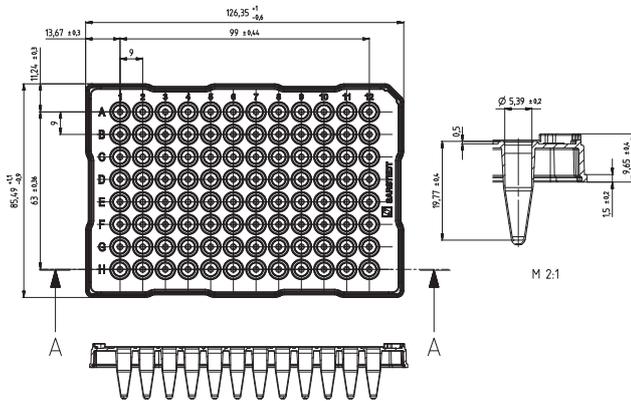


Dica:
Para o armazenamento de amostras, recomendamos a tampa com as cadeias de tampas compatíveis 65.989.002.

Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.
Placa para PCR de 96 poços com saia, Protein Low Binding	transparente		10 unidades/saco e 100 unidades/caixa	72.1980.600
Cadeias de tampas para PCR	altamente transparente		120 unidades/saco e 480 unidades/caixa	65.989.002



Placas para PCR com meia saia – High Profile



Informações sobre o produto:

Perfil: High Profile
 Volumes de poço máximos: 0,2 ml
 Canto cortado: A12

Características e vantagens:

- Paredes de poço uniformes e extremamente finas permitem uma transferência de calor homogêneo com máxima rapidez. Isto garante resultados fiáveis e altamente reproduzíveis.
- O rebordo elevado à volta de cada poço protege contra a contaminação cruzada, permite uma selagem segura com películas, proporcionando proteção contra perdas por evaporação.
- Uma rotulagem alfanumérica preta facilita a identificação e a rastreabilidade das amostras em caso de enchimento manual.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos conduzidos de forma independente permitem as excelentes certificações de pureza PCR Performance Tested e Biosphere® plus.
- Teste de estanqueidade a 100% em cada poço, para máxima segurança das amostras.
- Fácil e seguro de empilhar para aproveitar melhor os espaços de armazenamento limitados.



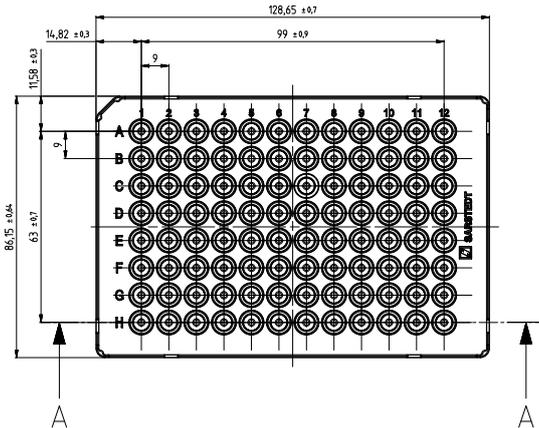
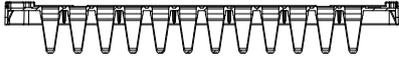
Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.
Placa para PCR de 96 poços com meia saia	transparente		10 unidades/saco e 100 unidades/caixa	72.1979
Placa para PCR de 96 poços com meia saia	transparente		1 unidade/blister e 20 unidades/caixa	72.1979.201
Placa para PCR de 96 poços com meia saia	Branco (otimizado para qPCR)		10 unidades/saco e 100 unidades/caixa	72.1979.010
Placa para PCR de 96 poços com meia saia e código de barras	transparente		10 unidades/saco e 100 unidades/caixa	72.1979.003
Placa para PCR de 96 poços com meia saia, DNA Low Binding	transparente		10 unidades/saco e 100 unidades/caixa	72.1979.700
Placa para PCR de 96 poços com meia saia e tampa plana	transparente		5 unidades/saco e 100 unidades/caixa	72.1979.102
Placa para PCR de 96 poços com meia saia e tampa plana	Branco (otimizado para qPCR)		5 unidades/saco e 100 unidades por caixa	72.1979.132

Outras variantes de cor e com código de barras a pedido.

As cadeias de tampas e os filmes de fecho adequados encontram-se nas páginas 24-27.



Placas para PCR com meia saia – Low Profile



Informações sobre o produto:

Perfil: Low Profile
 Volumes de poço máximos: 0,1 ml
 Canto cortado: A1

Características e vantagens:

- Paredes de poço uniformes e extremamente finas permitem uma transferência de calor homogêneo com máxima rapidez. Isto garante resultados fiáveis e altamente reproduzíveis.
- As dimensões em conformidade com ANSI permitem a utilização em sistemas automatizados.
- O rebordo elevado à volta de cada poço protege contra a contaminação cruzada, permite uma selagem segura com películas, proporcionando proteção contra perdas por evaporação.
- Uma rotulagem alfanumérica preta facilita a identificação e a rastreabilidade das amostras em caso de enchimento manual.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos conduzidos de forma independente permitem as excelentes certificações de pureza PCR Performance Tested.
- Teste de estanqueidade a 100% em cada poço, para máxima segurança das amostras.
- Fácil e seguro de empilhar para aproveitar melhor os espaços de armazenamento limitados.

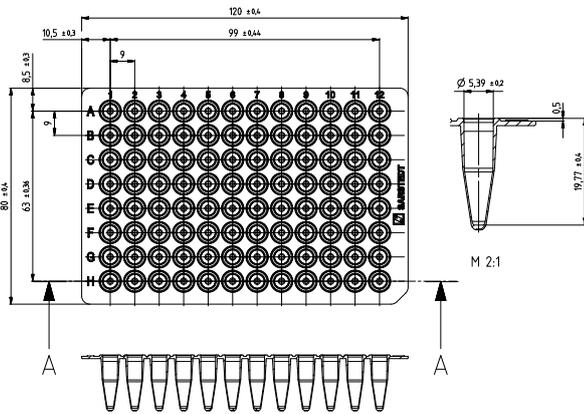
Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.
Placa para PCR de 96 poços com meia saia	transparente		10 unidades/saco e 100 unidades/caixa	72.1981
Placa para PCR de 96 poços com meia saia	Branco (otimizado para qPCR)		10 unidades/saco e 100 unidades/caixa	72.1981.010
Placa para PCR com meia saia Lightcycler 480, 96 poços	Branco (otimizado para qPCR)		25 unidades/saco e 100 unidades/caixa	72.1982.202

Outras variantes de cor e com código de barras a pedido.

As cadeias de tampas e os filmes de fecho adequados encontram-se nas páginas 24-27.



Placas para PCR sem saia – High Profile



Informações sobre o produto:

Perfil: High Profile
 Volumes de poço máximos: 0,2 ml
 Canto cortado: H12

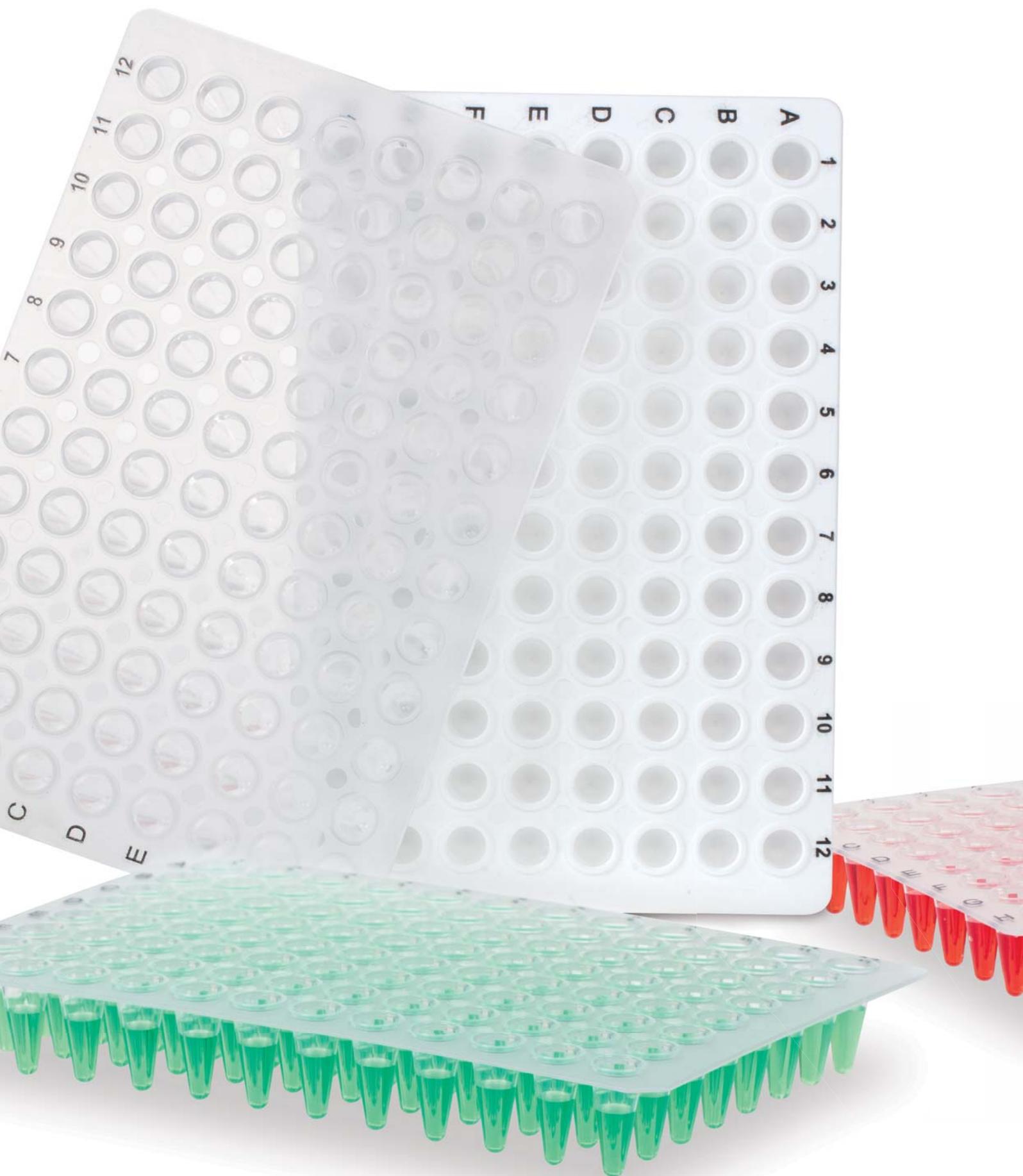
Características e vantagens:

- Fácil de cortar se o volume de amostras for baixo ou se forem necessários formatos de 24 poços ou 48 poços.
- Paredes de poço uniformes e extremamente finas permitem uma transferência de calor homogêneo com máxima rapidez. Isto garante resultados fiáveis e altamente reproduzíveis.
- As dimensões em conformidade com ANSI
- permitem a utilização em sistemas automatizados.
- O rebordo elevado à volta de cada poço protege contra a contaminação cruzada, permite uma selagem segura com películas, proporcionando proteção contra perdas por evaporação.
- Uma rotulagem alfanumérica preta facilita a identificação e a rastreabilidade das amostras em caso de enchimento manual.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos conduzidos de forma independente permitem as excelentes certificações de pureza PCR Performance Tested.
- Teste de estanqueidade a 100% em cada poço, para máxima segurança das amostras.
- Fácil e seguro de empilhar para aproveitar melhor os espaços de armazenamento limitados.

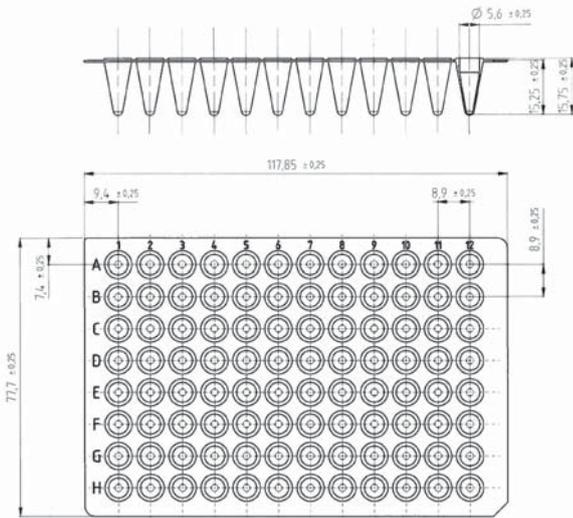
Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.
Placa para PCR de 96 poços sem saia	transparente		10 unidades/saco e 100 unidades/caixa	72.1978
Placa para PCR de 96 poços sem saia	Branco (otimizado para qPCR)		10 unidades/saco e 100 unidades/caixa	72.1978.010

Variantes de cor a pedido.

As cadeias de tampas e os filmes de fecho adequados encontram-se nas páginas 24-27.



Placas para PCR sem saia – Low Profile



Informações sobre o produto:

Perfil: Low Profile
 Volumes de poço máximos: 0,1 ml
 Canto cortado: H12

Características e vantagens:

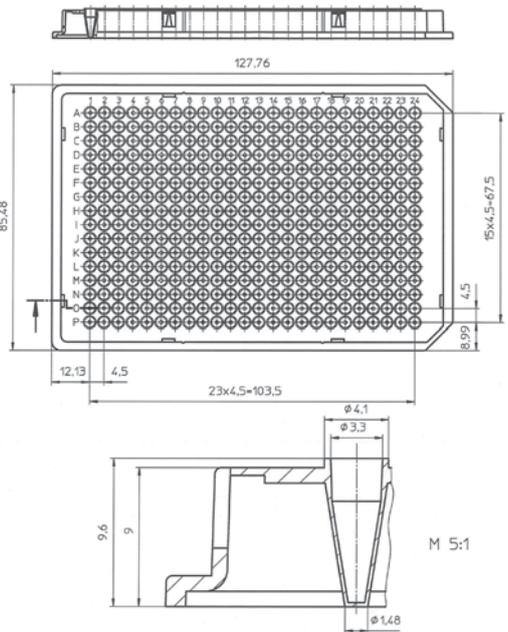
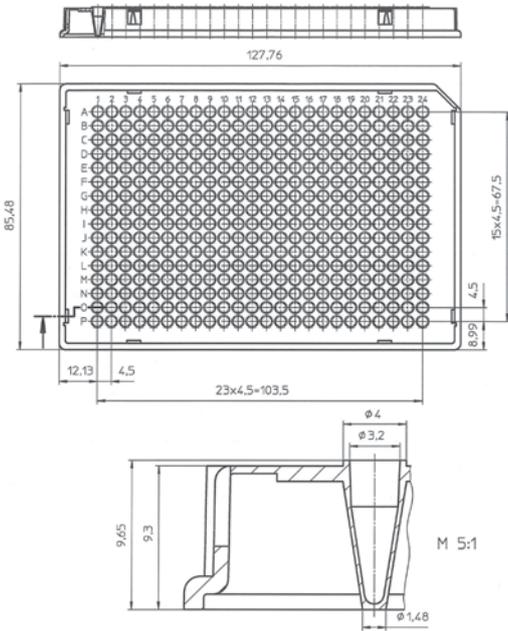
- Fácil de cortar se o volume de amostras for baixo ou se forem necessários formatos de 24 poços ou 48 poços.
- Paredes de poço uniformes e extremamente finas permitem uma transferência de calor homogêneo com máxima rapidez. Isto garante resultados fiáveis e altamente reproduzíveis.
- As dimensões em conformidade com ANSI permitem a utilização em sistemas automatizados.
- O rebordo elevado à volta de cada poço protege contra a contaminação cruzada, permite uma selagem segura com películas, proporcionando proteção contra perdas por evaporação.
- Uma rotulagem alfanumérica preta facilita a identificação e a rastreabilidade das amostras em caso de enchimento manual.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos conduzidos de forma independente permitem as excelentes certificações de pureza PCR Performance Tested.
- Fácil e seguro de empilhar para aproveitar melhor os espaços de armazenamento limitados.



Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.
Placa para PCR de 96 poços sem saia	transparente		20 unidades/saco e 100 unidades/caixa	72.1977.202
Placa para PCR de 96 poços sem saia	Branco (otimizado para qPCR)		20 unidades/saco e 100 unidades/caixa	72.1977.232



Placas para PCR de 384 poços



Informações sobre o produto:

Perfil: Low Profile
 Volumes de poço máximos: 40 µl
 Canto cortado: A24 ou A24 e P24

Características e vantagens:

- Paredes de poço uniformes e extremamente finas permitem uma transferência de calor homogêneo com máxima rapidez. Isto garante resultados fiáveis e altamente reproduzíveis.
- As dimensões em conformidade com ANSI permitem a utilização em sistemas automatizados.
- O rebordo elevado à volta de cada poço protege contra a contaminação cruzada, permite uma selagem segura com películas, proporcionando proteção contra perdas por evaporação.
- Uma rotulagem alfanumérica preta facilita a identificação e a rastreabilidade das amostras em caso de enchimento manual.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos conduzidos de forma independente permitem as excelentes certificações de pureza PCR Performance Tested.

Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.
Placa para PCR de 384 poços com saia saia	transparente		25 unidades/saco e 50 unidades/caixa	72.1984.202
Placa para PCR de 384 poços com saia	Branco (otimizado para qPCR)		50 unidades/saco e 100 unidades/caixa	72.1985.202

Placas para PCR Multiply® – Tabela de compatibilidade

Quantidade de poços	96	96	96	96	96	384
Meia saia/Saia	sem	sem	Meia	Completo	Meio	Completo
Perfil	High	High	High	Low	Low	-
Ref. ^a placas para 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®

FlexCycler² 96 Well

qTOWER 2.0/2.2 SP

SpeedCycler² 96 Well SP & SPR

TAdvanced

TOne

TOptical

TRobot 96 Well

TRobot 384 Well

Família TProfessional 96 Well (exceto TRIO)

Família TProfessional 384 Well (exceto TRIO)

Applied Biosystems®/Life Technologies®

GeneAmp® 2700, 2720

GeneAmp® 7500/5700

GeneAmp® 9600

GeneAmp® 9700

GeneAmp® 9800 FAST Block

PE 2700

PE 9600

PE 9700

Prism® 2720

Prism® 7000/7700

Prism® 7300/7500

Prism® 7500 Fast

Prism® 7900HT

Prism® 7900 Fast

Prism® 7900HT Fast

QuantStudio™ (3, 5, 6, 7 e 12)

StepOne Plus™

Veriti® 96 Well/384 Well

Veriti® Fast 96 Well

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  = não é feita nenhuma verificação

* com adaptador indicado da ABI

A tabela de compatibilidade representa uma recomendação de utilização para os produtos indicados. Chamamos a atenção para o facto de estes artigos não serem testados por nós por rotina quanto à sua compatibilidade com os aparelhos enunciados. Não se trata, por isso, de uma propriedade garantida do produto.

Quantidade de poços	96 pré-carregados	96	96	96	96	384	96	384
Meia saia/Saia	sem	sem	Meia	Completo	Meia	Completo	Meia	Completo
Perfil	High	High	High	Low	Low	-	"Lightcycler"	"Lightcycler"
Ref. ^a placas para 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 Well		●						
Palm Cycler 384 Well				●				

Eppendorf®

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

Ericom®

Deltacycler			●	●				
SingleBlock			●	●				
TwinBlock			●	●				

MWG®

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

Roche®

Lightcycler® 96 System							●	
Lightcycler® 480 System							●	●

Stratagene®/Agilent®

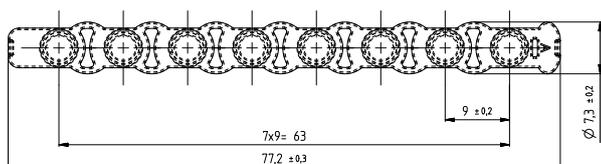
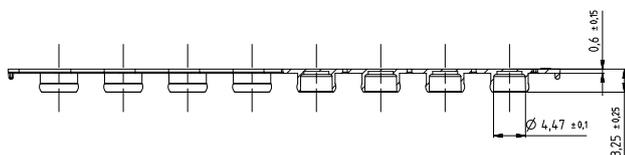
AriaMx Real-Time PCR System				●	●			
Mx3000P™	●	●						
Mx3005P™	●	●	●	●				
Mx4000™	●	●	●					
Gradient Cycler		●		●				
Robocycler 384 Well							●	

Techné®

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



Tiras de tampas para PCR



Características e vantagens:

- Indicadas para fechar placas e strips para PCR.
- Tiras de tampas altamente transparentes e otimizadas para PCR em tempo real e outras aplicações à base de fluorescência.
- As tiras de tampas otimizadas entre si e as placas ou strips para PCR garantem uma vedação perfeita.
- Orientação simples devido à indicação do sentido nas extremidades das tiras de tampas.
- Compatibilidade universal das tiras de tampas tanto com strips como com placas para PCR.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos conduzidos de forma independente permitem as excelentes certificações de pureza PCR Performance Tested e Biosphere® plus.

Dica:
Para o armazenamento de amostras em placas para PCR recomendamos o fecho com tiras de tampas para facilitar a abertura e o fecho.

Designação	Cor	Pureza	Indicado para	Embalagem	Ref.
Tiras de tampas para PCR	altamente transparente		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/saco e 240 unidades/caixa	65.989
Tiras de tampas para PCR	altamente transparente		72.1979.102 72.1979.132 72.1982.202	120 unidades/saco e 480 unidades/caixa	65.989.002
Tiras de tampas para PCR	transparente		72.1979.102 72.1979.132 72.1982.202	12 unidades/saco e 1.200 unidades/caixa	65.1998.400

Folhas adesivas de fecho

A selagem hermética de microplacas de polipropileno, poliestireno e policarbonato evitam a evaporação e protegem amostras durante a aplicação, armazenamento de amostras e envio requer materiais de filme feitos sob medida.

Tem à sua disposição diversas folhas adesivas de fecho SARSTEDT especialmente desenvolvidas para os altos requisitos em PCR, armazenamento de substâncias ativas e triagem de alto rendimento. Todas as folhas adesivas são produzidas em condições de sala limpa para evitar a contaminação com DNases/RNases e ácidos nucleicos.



Folhas adesivas de elevada transparência para PCR quantitativo em tempo real (qPCR) • REF 95.1999

As finas folhas adesivas de 50 µm são revestidas com um adesivo transparente e sem riscos que adere apenas ligeiramente à temperatura ambiente. Isto simplifica o manuseamento. Uma aderência forte só ocorre quando a película é pressionada e leva a menores perdas por evaporação.

- Folha de elevada transparência feita sob medida para PCR em tempo real (qPCR) e outras aplicações baseadas em fluorescência.
- Vedação segura com adesivo inovador.
- Sem aderência incómoda às luvas durante a aplicação da película
- Proteção ideal da amostra através da cola encapsulada



Folhas Adesivas transparente para PCR quantitativo em tempo real (qPCR) • REF 95.1993

A folha é composta por um filme de poliéster transparente de 50 µm de espessura, revestido com uma fina camada de adesivo.

- Elevada transparência
- Elevada proteção contra a evaporação



Folha adesiva transparente para PCR • REF 95.1994

Folha ótica transparente para PCR

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



Folha adesiva resistente e transparente para armazenamento de amostras • REF 95.1992



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

Folha de alumínio adesiva para PCR e armazenamento de amostras • REF 95.1995



A folha de alumínio resistente ao calor, robusta e perfurável de 38 µm de espessura é caracterizada por um elevado nível de proteção contra a evaporação e alta resistência a solventes. As tiras de aplicação laterais perfuradas podem ser facilmente separadas após a aplicação.

- A folha de alumínio é facilmente perfurável com pontas de pipeta.
- Ideal para armazenar material de amostra/substâncias ativas até -70°C.

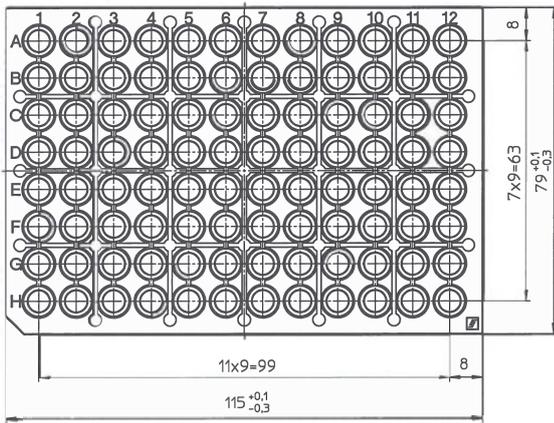
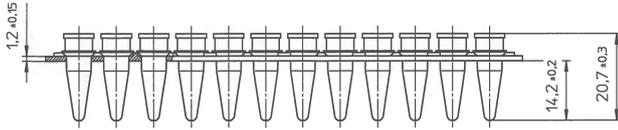
Descrição do dispositivo	Aplicação	Propriedades especiais	Óptico	Perfurável	Intervalo de temperatura funcional	Embalagem	Nº do pedido
Folha adesiva qPCR de elevada transparência visual	qPCR, análises de fluorescência	Adesivo altamente transparente e sensível ao calor, taxas de evaporação mais baixas	+	não	-80°C a 100°C	100 películas/caixa interna	95.1999
Folha de PCR transparente	PCR, qPCR	Material fino, alta nitidez visual	+	não	-40°C a 120°C	100 películas/caixa interna	95.1993
Folha de PCR transparente	PCR, armazenamento de amostras	Forte poder adesivo, elevada resistência química	+	não	-70°C a 105°C	100 películas/caixa interna	95.1994
Folha de alumínio adesiva	Armazenamento de amostras, PCR	Perfurável, proteção contra luz para amostras, elevada resistência química	-	sim	-70°C a 105°C	100 películas/caixa interna	95.1995
Folha de vedação transparente	Armazenamento de amostras, PCR	Extremamente robusta, taxas de evaporação mais baixas	+	não	-80 °C a 120 °C	100 películas/caixa interna	95.1992

Qual a folha certa 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 (cola encapsulada)	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 (cola encapsulada)	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 padrão de amostras a -80 C	95.1992	não	sim
Proteção contra a evaporação (PCR)	Transparência padrão e segurança para amostras	95.1992	não	sim



Confortavelmente pré-carregadas – A alternativa às placas de quadro de policarbonato para PCR de 2 componentes



Informações sobre o produto:

Perfil: High Profile
 Volumes de poço máximos: 0,2 ml

12 strips de PCR pré-carregadas em tabuleiro de trabalho para PCR com certificação de pureza máxima

Características e vantagens:

- Versão Biosphere® plus, em embalagem esterilizada individual
- Pode fechar-se com tiras de tampas altamente transparente REF 65.989
- Quadro de policarbonato
- Utilizável em RackSystem (ver pág. 37)



Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.
Strips de PCR de 96 poços em tabuleiro de trabalho	transparente		Embaladas individualmente em sacos e 20 unidades/caixa	72.985
Tiras de tampas para PCR, Biosphere® plus	altamente transparente		12 unidades/saco e 240 unidades/caixa	65.989



Strips de PCR com tiras de tampas em separado



Informações sobre o produto:

Perfil: High Profile
 Volumes de poço máximos: 0,2 ml

Características e vantagens:

- Tiras de tampas otimizadas entre si e as strips de PCR garantem uma vedação perfeita.
- Não se torcem, não se vergam, não se partem – as barras de ligação reforçadas impedem que as strips de PCR fiquem bambas.
- Orientação simples devido à indicação do sentido nas extremidades das tiras de tampas (saliência de um lado).
- Paredes de poço uniformes e finas permitem uma transferência de calor homogênea e com máxima rapidez. Isto garante resultados fiáveis e altamente reproduzíveis.
- Compatibilidade universal das tiras de tampas tanto com strips como com placas para PCR.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos conduzidos de forma independente permitem as excelentes certificações de pureza PCR Performance Tested e Biosphere® plus.

Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.
Strips de PCR de 8 poços sem tampa acoplada	transparente		120 unidades/saco e 480 unidades/caixa	72.985.002
Strips de PCR de 8 poços sem tampa acoplada	Branco (otimizado para qPCR)		120 unidades/saco e 480 unidades/caixa	72.985.092
Strips de PCR de 8 poços sem tampa acoplada	Várias cores (vermelho, verde, azul, lilás)		cada 120 unidades de uma cor/saco e 480 unidades/caixa	72.985.992
Tiras de tampas altamente transparente	transparente		120 unidades/saco e 480 unidades/caixa	65.989.002

Outras variantes de cor a pedido.

Strips de PCR com tiras de tampas em separado

Informações sobre o produto:

Perfil: Low Profile

Volumes de poço máximos: 0,1 ml



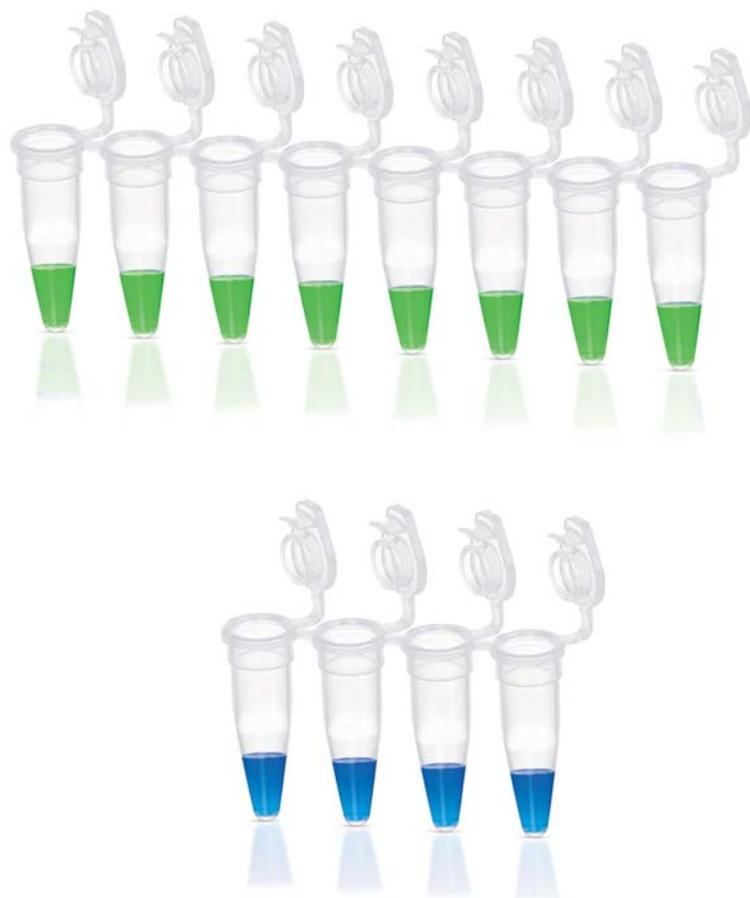
Características e vantagens:

- Tiras de tampas otimizadas entre si e as strips de PCR garantem uma vedação perfeita.
- Paredes de poço uniformes e finas permitem uma transferência de calor homogênea e com máxima rapidez. Isto garante resultados fiáveis e altamente reproduzíveis.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos conduzidos de forma independente permitem as excelentes certificações de pureza PCR Performance Tested.
- Embalagem combinada incluindo tiras de tampas.



Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.
Strips de PCR de 8 poços sem tampa acoplada	transparente		cada 125 unidades por saco e 1250 unidades por caixa	72.982.002
Strips de PCR de 8 poços sem tampa acoplada	Branco (otimizado para qPCR)		cada 125 unidades por saco e 1250 unidades por caixa	72.982.092

Strips de PCR com tampa acoplada



Informações sobre o produto:

Perfil: High Profile
 Volumes de poço máximos: 0,2 ml

Características e vantagens:

- Maior segurança sem comprometer o manuseamento – a proteção anticontaminação integrada impede o contacto accidental com o interior da tampa.
- Não se torcem, não se vergam, não se partem
- As barras de ligação reforçadas impedem que as strips de PCR fiquem bambas.
- Tampa plana com muito espaço para escrever.
- Paredes de poço uniformes e finas permitem uma transferência de calor homogénea e com máxima rapidez. Isto garante resultados fiáveis e altamente reproduzíveis.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos conduzidos de forma independente permitem as excelentes certificações de pureza PCR Performance Tested e Biosphere® plus.

Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.
Strips de PCR de 8 poços com tampas acopladas	transparente		120 unidades/saco e 480 unidades/caixa	72.991.002
Strips de PCR de 8 poços com tampas acopladas	Várias cores (vermelho, verde, azul, lilás)		cada 120 unidades de uma cor/saco e 480 unidades/caixa	72.991.992
Strips de PCR de 4 poços com tampas acopladas	transparente		120 unidades/saco e 480 unidades/caixa	72.990.002
Strips de PCR de 4 poços com tampas acopladas	transparente		50 unidades/saco e 400 unidades/caixa	72.990
Strips de PCR de 4 poços com tampas acopladas	Várias cores (vermelho, verde, azul, lilás)		cada 120 unidades de uma cor por saco e 480 unidades por caixa	72.990.992

Strips de PCR Low Profile (0,1 ml) com tampas acopladas

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



Tubos individuais de PCR com tampa acoplada



Informações sobre o produto:

Perfil: High Profile

Volumes de poço máximos: 0,2 ml e 0,5 ml

Características e vantagens:

- Maior segurança sem comprometer o manuseamento – a proteção anticontaminação integrada impede o contacto accidental com o interior da tampa.
- Recipientes de 0,5 ml adequados para usar com o fluorómetro Qubit™
- Tampa plana com muito espaço para escrever.
- Paredes de poço uniformes e finas permitem uma transferência de calor homogénea e com máxima rapidez. Isto garante resultados fiáveis e altamente reproduzíveis.
- A produção em condições de sala limpa e os testes biológicos conduzidos de forma independente permitem as excelentes certificações de pureza PCR Performance Tested e Biosphere® plus.

Dica:
 Por princípio, deve encher sempre o bloco do ciclador de forma simétrica para conseguir uma distribuição uniforme da pressão da tampa do ciclador nos recipientes de PCR, bem como uma distribuição mais homogénea do calor.

Designação	Cor	Pureza	Embalagem	Ref.
Tubos individuais para PCR de 0,2 ml com tampa acoplada	transparente		500 unidades/saco e 2.000 unidades/caixa	72.737.002
Tubos individuais para PCR de 0,2 ml com tampa acoplada	transparente		250 unidades/saco e 2.000 unidades/caixa	72.737
Tubos individuais para PCR de 0,2 ml com tampa acoplada	Várias cores (vermelho, laranja, verde, azul, lilás, amarelo)		cada 500 unidades de uma cor/saco e 3.000 unidades/caixa	72.737.992
Tubos individuais para PCR de 0,5 ml com tampa acoplada	transparente		500 unidades/saco e 2.000 unidades/caixa	72.735.002
Tubos individuais para PCR de 0,5 ml com tampa acoplada	transparente		100 unidades/saco e 1.000 unidades/caixa	72.735.100
Tubos individuais para PCR de 0,5 ml com tampa acoplada	Várias cores (vermelho, laranja, verde, azul, lilás, amarelo)		cada 500 unidades de uma cor por saco e 3.000 unidades por caixa	72.735.992

Sistemas inteligentes de rack e pipetagem

Refrigeração fiável das suas amostras – rack para PCR IsoFreeze®

A preparação das amostras costuma exigir que estas sejam refrigeradas de forma contínua e fiável. Por isso, para as aplicações mais sensíveis à temperatura, a SARSTEDT disponibiliza com os racks IsoFreeze® PCR uma estação de pipetagem e armazenamento com controlo fiável da temperatura.

Características e vantagens:

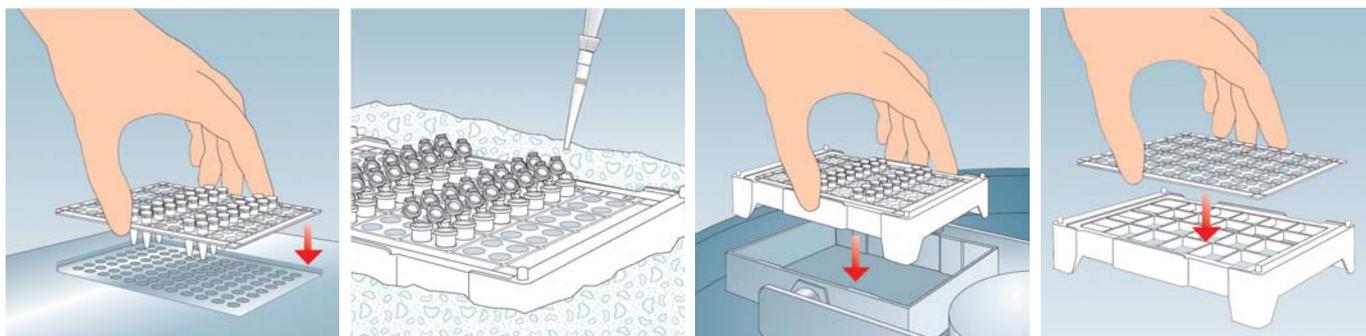
- Mudança de cor nítida de lilás para rosa ao sair do intervalo de temperatura ideal (a partir de 7 °C).
- Risco mínimo de contaminação, uma vez que o armazenamento da amostra dispensa gelo.
- A uma temperatura ambiente normal, a temperatura da amostra mantém-se dentro do intervalo ideal durante até 3 horas (com a tampa colocada)
- Placas e cadeias para PCR, bem como recipientes isolados, de formato 8 x 12 para 0,1 ml e 0,2 ml, ou de formato 6 x 4, indicadas 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



RackSystem da SARSTEDT – A estação de armazenamento e de pipetagem flexível

- Sistema flexível de 2 componentes composto por tabuleiro de trabalho e estação de base
- Manuseamento ágil de strips de PCR e tubos individuais, uma vez que podem ser transferidos para o termociclador com o tabuleiro de trabalho
- Organização fácil do laboratório devido às diferentes opções de cores da estação base



Designação	Cor	Ref.
Tabuleiro de trabalho de 96 poços	5 unidades/saco	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 PCRs bem-sucedidas

Recomendações gerais

- Armazenar sempre o DNA em tampão Tris-EDTA (pH 8) e não em água para evitar a degradação.
- Utilizar pontas de pipeta com filtros e usar luvas para evitar contaminações (cruzadas).
- Evitar pipetar as misturas de reação em câmaras de fluxo laminar ventiladas, uma vez que isso aumenta o risco de contaminações cruzadas.
- Pipetar as misturas de reação num local limpo, que seja utilizado para o menor número possível de outras aplicações de biologia molecular.
- Adicionar a DNA polimerase como o último componente ao pipetar a mistura de reação.
- Evite descongelar e voltar a congelar repetidamente os nucleótidos (dNTPs), pois isto pode destruí-los. Recomenda-se a aliquotagem de nucleótidos (e de primer) e o armazenamento das alíquotas a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Para a amplificação, calcule um minuto de alongamento por 1 kb de modelo de DNA.
- Utilizar consumíveis certificados isentos de DNA, DNase/RNase e inibidores de PCR, e evite a autoclavagem dos consumíveis antes da sua utilização, uma vez que, ao fazê-lo, estará a correr o risco de contaminar os produtos com biomoléculas indesejadas.
- Exponha os produtos da PCR à luz UV durante o menor tempo possível ao cortá-los do gel, para evitar a ocorrência de erros na sequência de DNA.

Diretrizes para a utilização do modelo de DNA

- São necessárias aproximadamente 100 cópias do modelo para se conseguir a deteção do produto da PCR em 25-30 ciclos. Use, pelo menos, 40 ciclos se for provável que haja menos de 10 cópias do modelo de DNA.
- Regra geral: Aplique concentrações de modelo de 1 pg - 1 ng ao usar DNA plasmídeo e 1 ng - 1 µg ao usar DNA genómico. Concentrações mais elevadas do modelo reduzem a especificidade da reação e aumentam, assim, a ocorrência de produtos não-específicos da PCR.
- Verifique fotometricamente a pureza do modelo de DNA (o quociente 260 nm/280 nm deve ser maior ou igual a 1,8) para assegurar que o modelo não está contaminado com inibidores de PCR e utilizar um kit de isolamento de DNA ou execute uma precipitação por etanol, se for detetada contaminação.
- Se necessário, verifique através de uma eletroforese em gel se o modelo de DNA está degradado.

Diretrizes para a utilização de primer

- Regra geral: Estabeleça uma concentração final de primer de 0,05 – 1 µM por primer. Concentrações mais elevadas de primer aumentam a ocorrência de produtos não-específicos da PCR devido à ligação não-específica dos primers. Muitas vezes, uma concentração de 0,2 µM por primer é ótima na reação final.
- Os primers devem ter, de preferência, um comprimento entre 20 e 30 nucleótidos.
- A percentagem de GC dos primers deve situar-se idealmente 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 da PCR com elevada percentagem de GC, pode adicionar-se DMSO à mistura de reação. Se forem utilizados aditivos, p. ex. DMSO, as temperaturas de recozimento podem ter de ser ajustadas, uma vez que concentrações elevadas podem enfraquecer a ligação do primer. Neste caso, use a menor concentração possível e não exceda 10% na mistura experimental.
- As temperaturas de recozimento (T_m) do par de primers utilizado não devem diferir mais de $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ entre elas e devem estar dentro de um intervalo de temperatura entre $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $72\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Use uma temperatura de recozimento $0 - 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ inferior à T_m calculada do primer com a T_m mais baixa.

Lista de verificação para detecção de falhas na PCR

Problema	Causa possível	Solução
Não há produto de amplificação	Inibidores de PCR na mistura de reação	Use consumíveis certificados isentos de DNA, DNase/RNase e inibidores de PCR. Verifique fotometricamente a pureza do modelo de DNA para obter uma indicação se o modelo está contaminado com inibidores de PCR (fenol, proteinase K, K ⁺ , Na ⁺ , etc.). Se o quociente 260 nm/280 nm for inferior a 1,8, use um kit de purificação de DNA ou execute a precipitação por etanol para eliminar eventuais inibidores de PCR presentes. Dilua o modelo (e assim os inibidores de PCR) e, em alternativa, aumente a concentração de DNA polimerase.
	O modelo PCR está degradado	Verificar por eletroforese em gel se existe algum modelo de PCR degradado. Execute um novo isolamento do modelo se encontrar indícios de um DNA inicial degradado (mancha de DNA, banda demasiado pequena, etc.). Minimize o corte do DNA durante o isolamento. Armazene o modelo de DNA em tampão Tris-EDTA (pH 8) para evitar a sua degradação.
	Condições de reação não-ideais	A temperatura de recozimento pode ter sido demasiado alta, o tempo de desnaturação demasiado longo ou o número de ciclos demasiado baixo. Otimize a temperatura de recozimento diminuindo-a gradualmente em incrementos de 1-2 °C, desnature o DNA inicialmente durante 3 minutos (tempos de desnaturação demasiado longos podem degradar o ADN) e durante 30 segundos nos ciclos de reação e/ou acrescente 5 ciclos.
	Componente esquecido na mistura de reação	Repita a PCR.
Produtos de amplificação não-específicos	Reagentes contaminados (p. ex., água)	Os reagentes da PCR (muitas vezes a água utilizada) podem ter sido acidentalmente contaminados durante os procedimentos de pipetagem anteriores. Use reagentes da PCR frescos.
	Condições de reação não-ideais	Pode ter sido usada uma temperatura de recozimento demasiado baixa, um número de ciclos demasiado elevado ou um tempo de extensão demasiado longo. As temperaturas de recozimento demasiado baixas favorecem uma ligação não-específica de primer. Por meio de um gradiente de temperatura, tente determinar a melhor temperatura de recozimento que produza o produto de PCR mais limpo. Números excessivamente elevados de ciclos também levam, por vezes, à amplificação de produtos não-específicos da PCR. Se ocorrerem produtos não-específicos da PCR, experimente retirar 5 ciclos. Os longos tempos de alongamento também favorecem uma amplificação não-específica. Dependendo do tamanho do produto da PCR, defina um tempo de alongamento tão preciso quanto possível (para a amplificação por modelo de DNA de 1 kb, as polimerases Taq requerem cerca de um minuto de extensão).
	Demasiado Mg ²⁺ na mistura de reação	Concentrações demasiado elevadas de Mg ²⁺ aumentam a probabilidade de ocorrência de uma ligação não-específica de primer e, assim, a formação de produtos de PCR indesejados. Neste caso, reduza a quantidade de Mg ²⁺ usada.
	O modelo PCR está degradado	Verificar por eletroforese em gel se existe algum modelo de PCR degradado. Execute um novo isolamento do modelo se encontrar indícios de um DNA inicial degradado (mancha de DNA, banda demasiado pequena, etc.). Minimize o corte do DNA durante o isolamento. Armazene o modelo de DNA em tampão Tris-EDTA (pH 8) para evitar a sua degradação.

SARSTEDT S.A.

Sintra Business Park, Edifício 8
Zona Industrial da Abrunheira
2710-089 Sintra

Tel: +351 21 915 6010

Fax: +351 21 915 6019

info.pt@sarstedt.com

www.sarstedt.com

O fluxo de trabalho de diagnóstico molecular da SARSTEDT

Aproveite as vantagens dos nossos consumíveis coordenados!

O fluxo de trabalho de diagnóstico molecular online



molecular-workflow.
sarstedt.com

