

## BioMixCell Flash HS PCR MasterMix (Dye)

V.01

**Cód.:** MIX003-XS (50 reações)  
 MIX003-S (100 reações)  
 MIX003-M (250 reações)  
 MIX003-L (500 reações)

Componente	MIX003-XS 50 rxs	MIX003-S 100 rxs	MIX003-M 250 rx	MIX003-L 500 rx
2 X Flash HS PCR MasterMix (Dye)	1,25 mL	2,5 mL	2 x 3,125 mL	3 x 4,16 mL
ddH2O	1,25 mL	2,5 mL	2 x 3,125 mL	3 x 4,16 mL

**Apenas para uso em pesquisa.**

### Armazenamento:

Armazenar entre -25°C e -15°C.

**Especificações:** BioMixCell Flash HS PCR MasterMix (Dye) é uma solução 2× concentrada para PCR. A Flash HS Taq DNA Polimerase apresenta uma rápida taxa de extensão (**5 – 15 kb/seg**), o que pode reduzir significativamente o tempo de duração da PCR. Este produto já contém o corante (azul) para que a análise por gel de eletroforese possa ser realizada diretamente após a reação. Um *mastermix* que proporciona estabilidade ao sistema de reação, permitindo bons resultados em mais de 98% dos casos e permitindo a execução de reações com modelos e *templates* complicados. É de fácil utilização e pode evitar erros e contaminação no preparo das reações. BioMixCell Flash HS PCR MasterMix (Dye) catalisa a adição de um resíduo de adenina à extremidade 3' de ambas as fitas das moléculas de DNA, o que o torna adequado para clonagem TA. É principalmente adequado para experimentos de PCR convencionais e clonagem de genes que exijam alta fidelidade.

### Instruções:

A seguir está um exemplo de um sistema de reação e condições de PCR para amplificação de um fragmento de 1 kb usando DNA genômico humano como “template”. O protocolo básico a seguir serve como orientação geral e ponto de partida para qualquer amplificação por PCR. Condições ideais de reação (tempos e temperaturas de incubação, concentração de PCR MasterMix, *primers* e DNA *template*) variam e precisam ser otimizados de acordo com o *template*, estrutura dos *primers* e tamanho do fragmento alvo.

#### 1. Preparo da reação

Componentes	Volume	Concentração Final
ddH2O	q.s.p. 50 µl	-
2 X Flash HS PCR MasterMix (Dye)	25 µl	1x
<i>Forward primer</i> (10 µM)	2 µL	0.4 µM
<i>Reverse primer</i> (10 µM)	2 µL	0.4 µM
DNA <i>template</i>	< 0.5 µg	< 0.5 µg/reação

Fabricado por: **Biocell Biotecnologia LTDA**

Rua Japão, nº 100 – A – Alto Barroca

Belo Horizonte/MG - CEP: 30.431-048

**Responsável Técnico:** Marlon Teodoro Martins

CRF/MG.: 33605

SAC: comercial@biocellbio.com.br | +55 31 2526-6111

**Nota:**

- A. **Concentração final de primers:** A concentração ótima de *primers* é entre 0.1 - 1.0  $\mu\text{M}$  por *primer*. A utilização de concentrações mais elevadas de *primers* pode ter efeito no aumento da amplificação. Uma concentração mais baixa de *primers* pode garantir um produto de reação mais limpo e um menor *background*.

**2. Protocolo**

Fase	Temperatura	Tempo	Ciclos
Desnaturação	98°C	10 seg	25 - 35
Anelamento	55 – 65°C	10 - 15 seg	
Extensão	72°C	5 - 15 seg/kb	

- A. **Tempo de extensão:** O tempo de extensão da PCR depende da sequência do gene alvo a ser amplificada. Use 5 - 10 seg para *amplicons* menores que 1.5 kb e 5 - 15 seg/kb para *amplicons* maiores que 1.5 kb. Para *templates* difíceis, aumente o tempo de extensão para obter uma maior eficiência de amplificação.
- B. **Temperatura de anelamento:** A temperatura de anelamento recomendada é de aproximadamente 5°C abaixo da  $T_m$ . Se bandas extras forem observadas, temperaturas de anelamento mais altas devem ser consideradas. A ausência do produto pode indicar a necessidade de uma temperatura de anelamento mais baixa.
- C. **Número de ciclos:** O número de ciclos vai depender basicamente das aplicações *downstream* desejadas para o produto de PCR. Se o número de ciclos for alto, a probabilidade do surgimento de um *background* de amplificação não específica aumenta. Portanto, o número de ciclos deve ser reduzido até o ponto que garanta o rendimento necessário do produto.