

2X ULTRA-HF FAST PCR SUPERMIX

(com corante)

Por favor, leia o manual cuidadosamente antes de usar

Cat. No. XP-431

Armazenamento: -20°C

Descrição:

O 2X Ultra-HF Fast PCR SuperMix é um sistema pronto para uso (ready-to-use) de altíssima performance, projetado para amplificações de DNA que exigem fidelidade extrema e alta velocidade. Formulado com uma DNA Polimerase de engenharia avançada fundida a um domínio de ligação ao DNA (DNA-binding domain), o mix oferece alta processividade e uma potente atividade exonucleásica 3'→5' (proofreading).

Nota de Aplicação: Esta versão contém um corante de carregamento (loading dye) integrado, permitindo a análise direta por eletroforese em gel imediatamente após a reação. No entanto, para aplicações subsequentes de clonagem, é imperativo que os amplicons sejam submetidos a um processo de purificação para a remoção completa do corante e componentes do tampão.

Características:

- **Ultra-Alta Fidelidade (High-Fidelity):** Taxa de erro significativamente menor quando comparada à *Taq* DNA Polimerase tradicional (fidelidade maior que 108).
- **Velocidade e Processividade Excepcionais:**
 - **Fragmentos ≤ 5 kb:** Velocidade de amplificação de até **12 kb/min** (5 a 10 s/kb).
 - **Fragmentos > 5 kb:** Velocidade de amplificação de até **6 kb/min** (10 a 20 s/kb).
 - Reduz drasticamente o tempo total da corrida no termociclador.
- **Capacidade para Alvos Longos (Long-Range PCR):**
 - Amplifica fragmentos de DNA genômico (gDNA) de até **15 kb**.
 - Amplifica vetores plasmidiais de até **20 kb**.
- **Produtos com Extremidades Cegas (Blunt-End):** A atividade *proofreading* eficiente remove projeções 3'-A, gerando amplicons com pontas cegas de alta pureza, ideais para clonagem direta em vetores como a série *pEASY-Blunt*®.

- **Tolerância a Inibidores e Modelos Complexos:** Sistema de tamponamento otimizado que confere alta resistência a inibidores comuns de PCR e facilita a amplificação em regiões com alto conteúdo de **GC/AT** ou estruturas secundárias complexas.
- **Formato SuperMix 2X (Sem Corante):**
 - Contém enzima, dNTPs, Mg^{2+} e tampão estabilizado em concentração 2X.
 - Minimiza erros de pipetagem, contaminações cruzadas e tempo de bancada.
 - A versão sem corante é ideal para aplicações downstream diretas que exigem leitura espectrofotométrica ou fluorimétrica sem interferência.

Conteúdo do kit:

Componente	XP-432-02	XP-432-05
2X Ultra-HF Fast PCR Supermix (-dye)	2x1ml	5x1ml
Água Nuclease-free	2ml	5x1ml

Condições de PCR recomendados (tomando como exemplo reação de 50 µl)

Componente	Volume	Concentração Final	Orientações de Otimização
Amostra	Variável	Como requerido*	
Primer Forward (10µM)	1,0-2,5 µl	0,2-0,5 µM	Concentração Recomendada: 0,4µM
Primer Reverse (10µM)	1,0-2, 5µl	0,2-0,5 µM	Manter proporção de 1:1 com p primer Forward.
2X HS Fast PCR SuperMix	25µl	1X	Homogeneizar suavemente antes de usar
DMSO (Opcional)	1,5-2,5 µl	3-5% (v/v)	Apenas para alvos com conteúdo GC>65%
Água	Variável	-	Completar o volume da Reação
Volume total	50µl	-	

*gDNA: 10-100ng/ Plasídeo: 1pg-10ng

Condições do PCR

Etapa	Temperatura	Tempo (≤ 5 kb)	Tempo (> 5 kb)	Ciclos
Desnaturação Inicial	98 °C	30 s - 1 min	1 - 2 min	1 ciclo
Desnaturação	98 °C	10 segundos	10 segundos	30 - 35 ciclos
Anealamento	T _m + 3 °C (ou T _m primer)	10 - 15 segundos	15 - 20 segundos	30 - 35 ciclos
Extensão	72 °C	5 s / kb (12 kb/min)	10 s / kb (6 kb/min)	30 - 35 ciclos
Extensão Final	72 °C	1 - 2 minutos	3 - 5 minutos	1 ciclo

Guia de Otimização

- **Ajuste de Temperatura de Anealamento (T_m):** Utilize a T_m calculada dos primers ou iniciador com gradiente até $T_m + 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ para maximizar a especificidade.
- **PCR em 2 Etapas (Two-Step PCR):** Se a T_m dos primers for $\geq 68\text{ }^{\circ}\text{C}$, combine as etapas de anealamento e extensão a $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15-30 s/kb.
- **Inibição por Excesso de DNA:** O excesso de DNA genômico pode inibir a reação. Utilize rigorosamente 10-100 ng de gDNA.
- **Clonagem TA vs Blunt-End:** Para utilizar amplicons em vetores TA, faça purificação do PCR e realize uma reação de adição de cauda A (A-tailing) com Taq Polimerase comum.

Nota :

- Descongele completamente o conteúdo do tubo e misture bem antes do uso.

Apenas para uso em pesquisa, não para diagnóstico clínico.

Importação e Distribuição:

Genexplore Comércio, Importação e Exportação Ltda

Website: www.genexplore.com.br | E-mail: suporte@genexplore.com.br

CNPJ: 62.359.822/0001-10 | I.E: 155.425.101.110

Endereço: Av. Primeiro de Maio, 379 – sala 04 – Ribeirão Preto – SP – CEP 14030-390

Tel: 16 981172336