

Descrição

O **Hot Start Master Mix 4B 2X – PCR** da *pht* possui alta eficácia e estabilidade, e é composto por todos os reagentes necessários para realização de uma PCR, com exceção dos primers e do DNA molde. A alta qualidade desse produto se deve principalmente à utilização da *Taq-pht*, uma DNA polimerase recombinante de alta termoestabilidade.

O **Hot Start Master Mix 4B 2X – PCR** é comercializado na concentração de 2X e propicia a característica *hot start* à reação (sem a necessidade de anticorpos). Apresenta $MgCl_2$, dNTP e *Taq* DNA polimerase, além de um tampão especializado para maximizar a eficácia da sua reação.

Apresentação

Composição	Código
Hot Start Master Mix 4B 2X – PCR	R4

Atenção! Este Master Mix possui um precipitado insolúvel.

Condições de armazenamento e transporte

- O **Hot Start Master Mix 4B 2X – PCR** pode ser transportado refrigerado em gelo gel ou em temperaturas inferiores. Manter ao abrigo da luz e umidade.
- A temperatura de armazenamento deve ser de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Medida de segurança

Para informações sobre biossegurança e orientações em casos de acidentes com o produto, consulte a Ficha de Dados de Segurança (FDS), disponível por meio do Serviço de Atendimento ao Consumidor (SAC) da Phoneutria Biotecnologia e Serviços. O contato pode ser feito pelo e-mail pht@phoneutria.com.br ou pelos telefones (31) 99585-3050 e (31) 3427-6413.

Protocolo - PCR

1. Prepare uma reação como indicado abaixo. Nesse exemplo, utilizamos o volume final de 20 μL . Outros volumes podem ser utilizados: faça alterações mantendo a concentração final do Hot Start Master Mix 4B em **1X**.

Reagente	Volume
Hot Start Master Mix 4B 2X – PCR	10 μL
Primer Forward (Concentração de 5 a 10 μM)	1 μL
Primer Reverse (Concentração de 5 a 10 μM)	1 μL
DNA ou cDNA molde purificado	1 – 8 μL
Água ultrapura livre de DNase	Completar o volume para 20 μL
Volume final = 20 μL	

2. Utilize o programa de ciclagem padronizados para sua reação. **Exemplo** de ciclagem para PCR:

Temperatura	Tempo	Observação	
95 $^{\circ}\text{C}$	5 min	O primeiro passo de desnaturação deve ter um tempo e temperatura maior para garantir a abertura das fitas de DNA.	
92 $^{\circ}\text{C}$	30 s	Repetir 30-35x	Segundo passo de desnaturação.
50-63 $^{\circ}\text{C}$	30 s		Anelamento dos primers no DNA alvo.
72 $^{\circ}\text{C}$	30 s		Extensão com ação da <i>Taq</i> DNA pol.
72 $^{\circ}\text{C}$	5 min	Tempo extra de extensão para finalizar a formação completa dos amplicons.	
4-15 $^{\circ}\text{C}$	∞	Para aguardar a retirada da reação do termociclador.	