

PCR y biología molecular

Productos de calidad certificados para la PCR(c)





Desde 1961, SARSTEDT diseña y fabrica productos de alta calidad para la medicina y la ciencia.

Descubra en las páginas siguientes nuestra amplia gama de productos y obtenga además valiosos consejos para optimizar aún más el proceso de la PCR.

Para garantizar una alta calidad de nuestros productos, apostamos por:

- ✓ Diseño sofisticado de artículos con grosores de pared uniformes.
- ✓ Selección de materias primas de alta calidad (p. ej., materiales de calidad médica)
- ✓ Fabricación automatizada en condiciones de sala blanca
- ✓ Controles de calidad elaborados (p. ej., pruebas de fuga al 100 %)
- ✓ Sistema de gestión de calidad certificado de acuerdo con ISO 13485
- ✓ Empleados con excelente formación

De esta forma conseguimos nuestra extraordinaria calidad de productos «Made in Germany».

Además de nuestra gama estándar, también ofrecemos productos de alto rendimiento fabricados con los últimos adelantos de la técnica que p. ej., tienen propiedades de baja adherencia (Low Binding) para determinadas biomoléculas o presentan niveles de pureza máximos. Para peticiones especiales, también fabricamos productos personalizados específicamente para el cliente. Si está interesado, no dude en ponerse directamente en contacto con nosotros.

Su equipo **SARSTEDT**

Índice

¡Empiece ya – con máxima pureza!	4
La calidad de los plásticos para PCR es importante – rendimiento fiable en todas las aplicaciones de PCR(c) gracias a normas de producción pioneras	4
Máxima pureza y fiabilidad para análisis de alta sensibilidad	
PCR Performance Tested	5
Biosphere® plus – Nuestro plus en seguridad	5
Sensibilidad optimizada y reproducibilidad mejorada	6
Baja adherencia para ADN y proteínas para la máxima recuperación de muestras	7
Placas de PCR Multiply® SARSTEDT – máxima fiabilidad	
Placas PCR con faldón – eficacia máxima y variabilidad reducida	9
Placa de PCR de baja adherencia proteica con faldón	11
Placas PCR con medio faldón - Perfil alto	13
Placas PCR con medio faldón - Perfil bajo	15
Placas PCR sin faldón - Perfil alto	17
Placas PCR sin faldón - Perfil bajo	19
Placas de PCR de 384 pocillos	21
Placas de PCR Multiply® – Tabla de compatibilidad	22-23
Tiras de tapas para PCR	25
Láminas de sellado adhesivas	26
Preinsertada de forma práctica – la alternativa a las placas de PCR de 2 componentes con marco de policarbonato	29
Cadenas para PCR con tira de tapas por separado	31
Cadenas para PCR con tira de tapas por separado	32
Cadenas para PCR con tapas sujetas	33
Microtubos individuales para PCR con tapas sujetas	35
Sistemas de gradillas y de pipeteado inteligentes	36
El sistema de gradillas RackSystem de SARSTEDT – la estación de almacenamiento y pipeteado flexible	37
Consejos/instrucciones para reacciones PCR correctas	38
Lista de comprobación para la resolución de problemas de la PCR	39

¡Empiece ya – con máxima pureza!

Los requisitos básicos de las normas de calidad certificadas de SARSTEDT son condiciones de sala blanca, personal debidamente formado con ropa de protección y procesos de fabricación automatizados.

Los controles de calidad elaborados que lleva a cabo periódicamente un laboratorio independiente nos permiten ofrecer consumibles que se pueden utilizar de forma fiable sin ningún coste adicional.

Hoy en día, sigue siendo una práctica común esterilizar los consumibles en autoclave. Muchas personas confunden productos estériles con artículos exentos de ADN. Pero la esterilización no elimina las biomoléculas indeseadas, como

el ADN, las ARNasas o los pirógenos. Sin embargo, lo que aún es más grave es que la esterilización en autoclave puede provocar la contaminación de los artículos. Rara vez funciona un uso separado de los autoclaves que esterilizan residuos de laboratorio de los que esterilizan consumibles limpios.

En la atmósfera saturada de vapor de los autoclaves, los plásmidos o las ARNasas se transfieren fácilmente de los residuos de laboratorio previamente esterilizados a los consumibles que en realidad están limpios.

Por lo tanto, ahórrese este trabajo adicional y arriesgado y empiece a trabajar de inmediato con nuestros consumibles de pureza certificada.

La calidad de los plásticos para PCR es importante – rendimiento fiable en todas las aplicaciones de PCR(c) gracias a normas de producción pioneras

Durante todo nuestro proceso de fabricación enfocado a la PCR, consideramos los parámetros esenciales que influyen en la calidad de los artículos de plástico para PCR. Esto comienza con el diseño y la construcción de moldes de precisión. Porque solo las herramientas moldeadas con precisión producen artículos de plástico extremadamente homogéneos, cuya uniformidad de pocillos minimiza la variabilidad de los datos. Los productos se fabrican con procesos automatizados en áreas de fabricación de gran pureza. Llevamos a cabo laboriosos procedimientos de purificación, porque incluso las más pequeñas trazas residuales de productos químicos podrían inhibir la amplificación de la PCR. Nuestro proceso de fabricación, desde el moldeado hasta el envasado final, está altamente automatizado en condiciones controladas, en complejos de plantas protegidas con flujo laminar.

Para la fabricación de los artículos SARSTEDT se utilizan únicamente materias primas seleccionadas de máxima pureza y calidad, que cumplen una amplia variedad de directrices y normas internacionales (predominantemente, de «calidad médica»). Elegimos exclusivamente proveedores que apoyan nuestra filosofía de máxima calidad. Por supuesto, tampoco se añaden aditivos, como bisfenoles o biocidas. Todos los materiales se han seleccionado cuidadosamente y cualificado específicamente para la finalidad correspondiente, a fin de optimizar al máximo nuestros productos.

Nuestros estándares de fabricación se completan con controles de calidad eficaces, como pruebas de estanqueidad de cada pocillo o el aseguramiento de la geometría de los artículos. En particular, la constancia de nuestra calidad, que nos permite fabricar siempre espesores de pared uniformes, le da la seguridad de obtener en todo momento resultados de PCR precisos y reproducibles.

Máxima pureza y fiabilidad para análisis de alta sensibilidad

PCR Performance Tested



Nuestra certificación de pureza «PCR Performance Tested» fue desarrollada específicamente para el análisis de ácidos nucleicos. Todos los artículos certificados «PCR Performance Tested» han sido analizados por un laboratorio independiente y no contienen ADN

humano ni bacteriano, ADNasas ni ARNasas, ni inhibidores de la PCR. Damos importancia a las pruebas adicionales para detectar inhibidores de la PCR, porque los aditivos utilizados en la fabricación de consumibles pueden tener efectos inhibidores de la PCR.

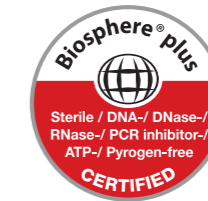
Asimismo, varias sustancias que se pueden introducir fácilmente en sus valiosas muestras actúan como inhibidores potentes de la reacción de PCR. Ejemplos bien conocidos son la hemoglobina o el etanol, que suele utilizarse p. ej., en el aislamiento de ácidos nucleicos. No obstante, siguen desconocidos en gran medida muchos inhibidores de la PCR. Por ejemplo, las muestras de esputo a menudo tienen un efecto inhibitorio de la PCR, sin que se hayan identificado todavía los componentes responsables. Los inhibidores de la PCR tienen un efecto especialmente grave si el efecto inhibitorio afecta a diferentes genes diana de forma diferente (p. ej., si la amplificación de un gen de mantenimiento se ve afectada con mayor o menor intensidad que la amplificación de un gen de interés analizado en paralelo). Por lo tanto, es mejor utilizar solo consumibles analizados en cuanto a la ausencia de inhibidores de la PCR.

Al trabajar con ARN, las omnipresentes ARNasas siempre suponen un reto. A diferencia de las ADNasas relacionadas, numerosas ARNasas no requieren cofactores como el Mg^{2+} para ser activas. Además, las ARNasas son muy estables y son capaces de replegarse a la conformación original por sí mismas si se exponen al calor.

Certificamos el cumplimiento garantizado de los siguientes valores límite en nuestros artículos «PCR Performance Tested»:

ADN humano	<0,5 pg/μl
ADN bacteriano	<0,02 pg/μl
ADNasa	<1 x 10 ⁻⁵ U/μl
ARNasa	<1 x 10 ⁻⁹ Unidades Kunitz/μl
Inhibidores de la PCR	<0,5 ciclos Desviación del valor C _t

Biosphere® plus – Nuestro plus en seguridad



Cada vez más aplicaciones requieren una ausencia absolutamente fiable de ADN u otras biomoléculas. Por eso, los productos certificados como Biosphere® plus se someten adicionalmente a un procedimiento de descontaminación validado. Por medio

de un tratamiento con óxido de etileno (EtO), se destruyen cualquier ADN y otras biomoléculas potencialmente presentes y se esterilizan los artículos. Otras pruebas de ausencia de pirógenos y de ATP (consejo: importante para los ensayos basados en luminiscencia) completan nuestra certificación Biosphere® plus.

Para poder excluir de forma fiable incluso contaminaciones mínimas, certificamos que nuestros productos con certificación Biosphere® plus cumplen los siguientes valores límite:

ADN humano	<5,0 fg/μl
ADN bacteriano	<0,2 fg/μl
Esterilidad validada según ISO 11135	
ATP	<1 x 10 ⁻¹² mmol/μl
Pirógenos / endotoxinas	<0,002 UE /ml
ADNasa	<5 x 10 ⁻⁷ U/μl
ARNasa	<5 x 10 ⁻¹¹ Unidades Kunitz/μl
Inhibidores de la PCR	<0,5 ciclos Desviación del valor C _t

Sensibilidad optimizada y reproducibilidad mejorada

Las aplicaciones basadas en fluorescencia, como la PCR en tiempo real (PCRc), se benefician, sobre todo con volúmenes reducidos, de las propiedades de reflexión significativamente mejores de los consumibles para PCR blancos. Además, debido a la coloración opaca, ya no se pierde luz fluorescente a través de las paredes y, gracias a la reflexión del colorante blanco optimizado, la cantidad de luz fluorescente que alcanza el detector es más constante que al utilizar productos transparentes. En consecuencia, al repetir los ensayos o aplicar duplicados o triplicados, se puede reducir notablemente la dispersión.

Debido al mayor nivel de fluorescencia de los consumibles para PCR blancos y a los efectos de fondo constantes del fluoróforo utilizado, se obtiene además una mejor relación señal / fondo. Asimismo, gracias a la coloración blanca opaca se evita la detección de luz fluorescente dispersa procedente de los pocillos vecinos y, por lo tanto, en el peor de los casos, una detección de falsos resultados positivos.

Sin embargo, la mayor ventaja de los consumibles PCR de color blanco es la gran mejora de la sensibilidad en comparación con el material transparente. En la Fig. 1 de muestra que, con idéntica cantidad de plantilla y de enzimas, la intensidad medida de la fluorescencia es notablemente mayor en los recipientes blancos que en los recipientes transparentes. Además, incluso el valor Ct disminuye de $24,87 \pm 0,08$ (transparente) a $23,40 \pm 0,07$ (blanco), lo que indica que las 1.000 moléculas de plantilla se detectan antes en los vasos blancos. Esta particularidad constituye otra gran ventaja, especialmente si solo se dispone de cantidades mínimas de material de partida.

En consecuencia, el cambio de consumibles para PCR transparentes a blancos también permite una reducción económica del volumen de las preparaciones de análisis. De este modo se puede reducir significativamente la cantidad de reactivos utilizados (enzima, sonda, cebador, etc.), lo que a su vez permite reducir los costes de los reactivos.

El uso de consumibles para PCR blancos conlleva ventajas considerables. No comprometa sus resultados para solo poder comprobar visualmente los pocillos desde el lateral o desde abajo.

Comparación del nivel de fluorescencia de pocillos blancos y transparentes

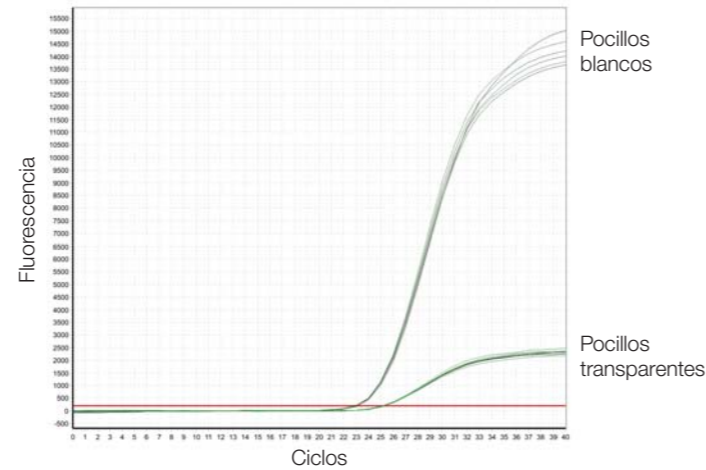


Fig. 1: Comparación de la fluorescencia de los artículos 72.985.002 (transparente) y 72.985.092 (blanco), obturados con la tira de tapas altamente transparente 65.989.002. Se amplificó un fragmento de 100 bp del plásmido EmGFP (cantidad de plantilla: 1.000 moléculas) en un volumen de 20 µl con el termociclador Eppendorf realplex 4S (n = 8).

Baja adherencia para ADN y proteínas – para la máxima recuperación de muestras

Debido a la tendencia a utilizar volúmenes cada vez menores, la minimización de posibles interacciones de los analitos con los recipientes adquiere una importancia creciente. Además, el creciente uso de consumibles de PCR para otras aplicaciones requiere a menudo una máxima recuperación de muestras. En particular, en la preparación y el almacenamiento de muestras de ácido nucleico (de baja concentración) y en la preparación de series de dilución se concede gran importancia a la posibilidad de recuperar todas las biomoléculas de los pocillos.

En el ámbito del análisis de proteínas o péptidos por espectrometría de masas, donde se utilizan de forma predeterminada viales de vidrio y recipientes normales de PP, la pérdida de péptidos y proteínas es un fenómeno conocido. El uso de productos baja adherencia proteica permite recuperar una cantidad significativamente mayor de proteínas o péptidos para los análisis posteriores. Las posibles enzimas utilizadas también permanecen activas, gracias a que la superficie de los artículos baja adherencia

Baja adherencia proteica – Representación comparativa de las pérdidas de proteínas:

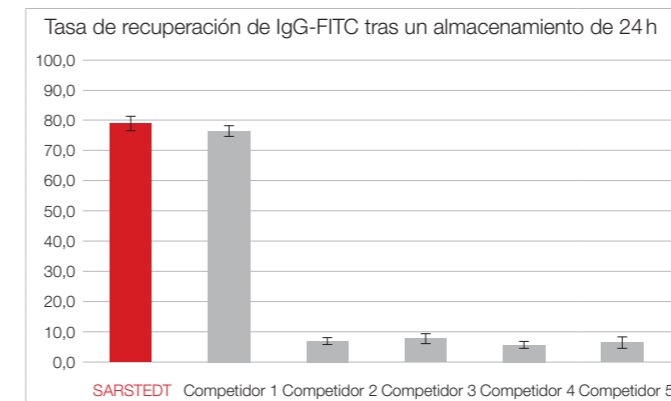


Fig. 2: Se almacenaron 8 x 125 µl en una solución de conjugado IgG-FITC (1,0 µg/ml en PBS; Sigma Aldrich, ref. F9636) durante 24 horas en artículos de baja adherencia proteica de SARSTEDT y de 5 competidores. Tras la incubación, se transfirieron respectivamente 100 µl a placas ELISA negras (SARSTEDT, ref. 82.1581.220) bloqueadas previamente durante al menos 2 h con 1 x Roti-Block (Carl Roth, ref. A151.4), y se midieron en el lector de placas Infinite 200 pro (Tecan). El ensayo se repitió en 3 días sucesivos. A diferencia de la mayoría de los productos de la competencia analizados, el almacenamiento en los artículos de baja adherencia proteica de SARSTEDT no produce ninguna pérdida significativa. Un producto de la competencia también presentó una tasa alta de recuperación.

proteica también reduce la desnaturalización de las enzimas por la interacción con la pared del vaso. Si la concentración de proteínas disminuye por debajo de un nivel crítico, ya no suele ser posible realizar un análisis fiable de proteínas con los recipientes de reacción convencionales. También en la inmunoprecipitación, la purificación o el aislamiento de las proteínas y el almacenamiento de muestras de proteínas, péptidos o anticuerpos, el uso de productos de baja adherencia proteica proporciona máxima fiabilidad.

Las bajas propiedades de unión de nuestros productos para ácidos nucleicos o péptidos / proteínas son el resultado del uso de materias primas especiales y de un tratamiento físico especial. Por supuesto, no se utilizan recubrimientos con silicona o sustancias similares para conseguir las propiedades especiales.

Ofrecemos productos de vanguardia con propiedades de baja unión a ADN (DNA Low Binding) y baja unión a proteínas (Protein Low Binding).

Baja adherencia a ADN – Representación comparativa de las pérdidas de ADN:

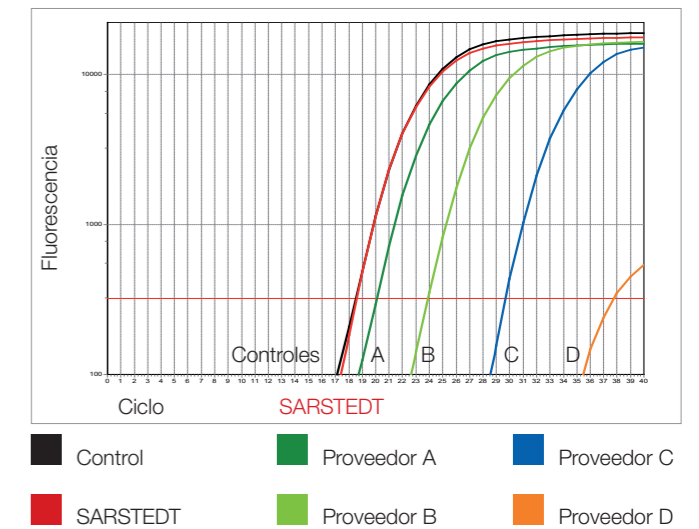


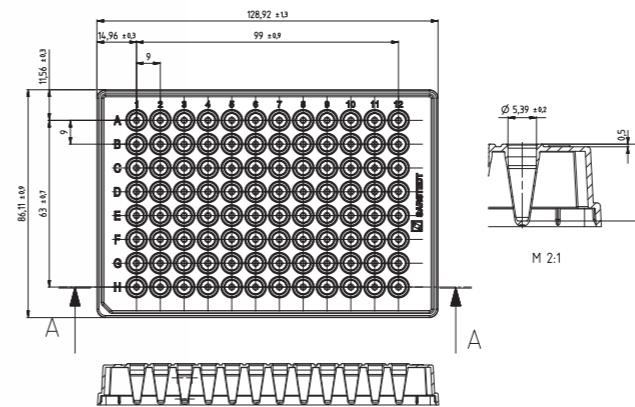
Fig. 3: Se llenaron 10 recipientes de análisis de diferentes proveedores con respectivamente 100 µl de una solución de ADN plasmídico (concentración: 10^4 copias/µl) y se agitaron a 37 °C.

Tras un tiempo de incubación de 3 h, se determinó el contenido de ADN por medio de una PCR en tiempo real. A título de ejemplo, este diagrama muestra una de las 10 series de ensayo.

Placas de PCR Multiply® SARSTEDT – máxima fiabilidad



Placas PCR con faldón – eficacia máxima y variabilidad reducida



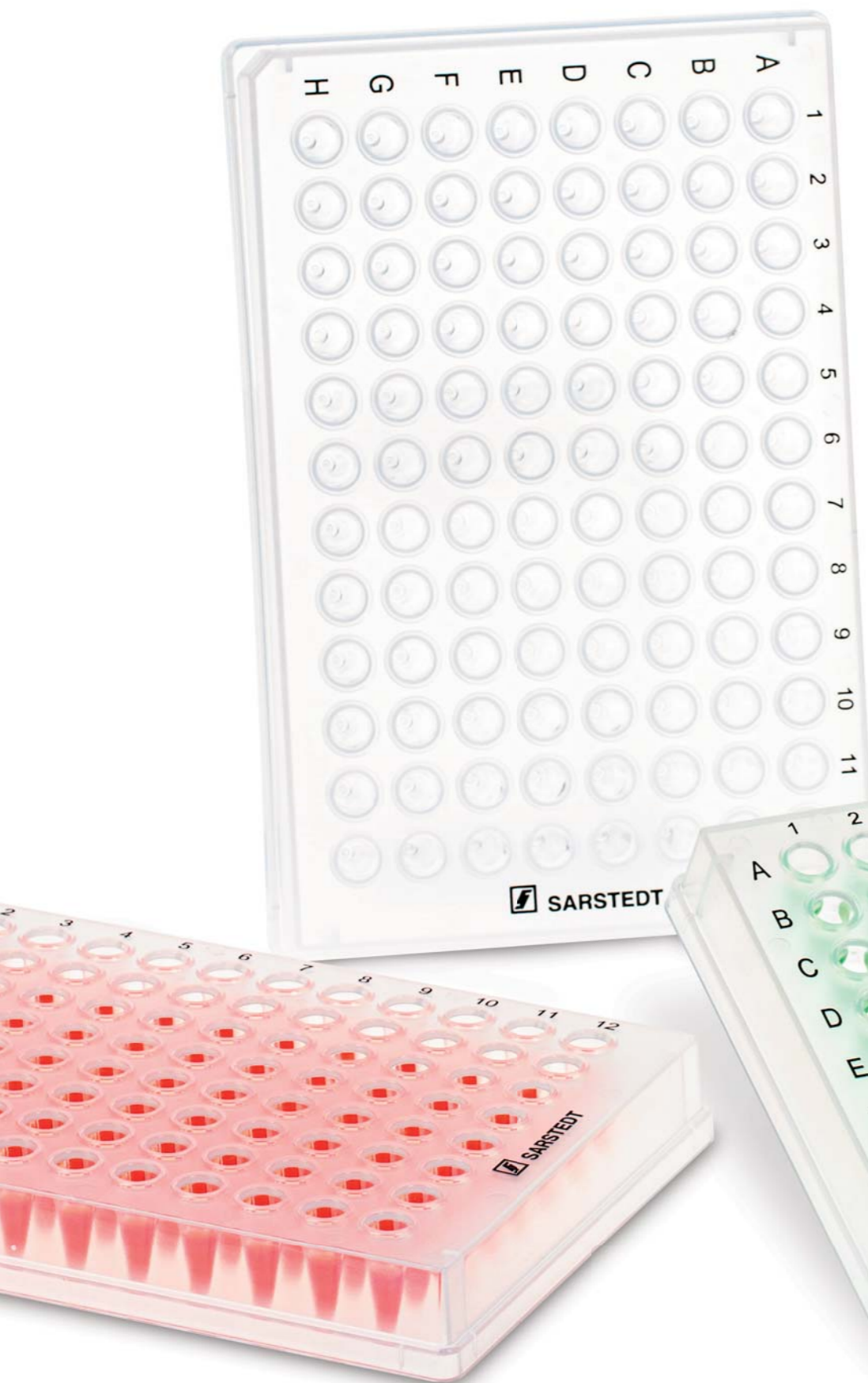
Información sobre el producto:
 Perfil: Perfil bajo
 Volumen máximo de los pocillos: 0,1 ml
 Esquina recortada: H1

Características y ventajas:

- Las paredes de los pocillos extremadamente uniformes y finas permiten una transmisión del calor homogénea y ultrarrápida. Así se garantizan resultados fiables y altamente reproducibles.
- Las dimensiones conformes a la norma ANSI permiten utilizarlas en sistemas automatizados.
- El borde elevado alrededor de cada pocillo protege contra la contaminación cruzada y permite un sellado seguro con láminas, evitando así pérdidas por evaporación.
- El serigrafiado alfanumérico negro facilita la identificación y la trazabilidad de las muestras durante el llenado manual.
- La fabricación en condiciones de sala blanca y los ensayos biológicos independientes permiten las extraordinarias certificaciones de pureza «PCR Performance Tested» y Biosphere® plus.
- Verificación de la estanqueidad total de cada pocillo para máxima seguridad en caso de muestras valiosas.
- Apilado fácil y seguro para aprovechar espacios de almacenamiento limitados.

Descripción	Color	Pureza	Presentación	Ref.
Placa de PCR de 96 pocillos con faldón	transparente		10 unidades / bolsa y 100 unidades / caja	72.1980
Placa de PCR de 96 pocillos con faldón	transparente		1 unidad / blíster y 20 unidades / caja	72.1980.201
Placa de PCR de 96 pocillos con faldón	blanca (optimizada para PCRc)		10 unidades / bolsa y 100 unidades / caja	72.1980.010
Placa de PCR de 96 pocillos con faldón, DNA Low Binding	transparente		10 unidades / bolsa y 100 unidades / caja	72.1980.700

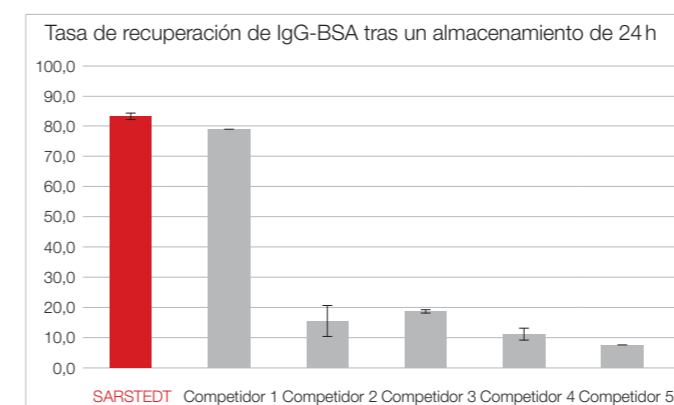
Otras variantes de color y variantes con códigos de barras previa solicitud. Encontrará tiras de tapas y láminas de sellado adecuadas en las páginas 24-27.



Placa de PCR de baja adherencia proteica con faldón

En el ámbito del análisis de proteínas o péptidos por espectrometría de masas, donde se utilizan de forma predeterminada viales de vidrio y recipientes normales de PP, la pérdida de péptidos/proteínas es un fenómeno conocido. Si la concentración de proteínas disminuye por debajo de un nivel crítico, ya no será posible realizar un análisis con recipientes de reacción convencionales. Por lo tanto, ofrecemos placas

de baja adherencia proteica de 96 pocillos con faldón para la preparación de muestras y el almacenamiento de cantidades mínimas de muestras a temperaturas bajo cero (-20 °C a -80 °C). Además, las placas son ideales para el uso en la inmunoprecipitación, la purificación o el aislamiento de proteínas y la preparación o el almacenamiento de muestras de proteínas, péptidos o anticuerpos.

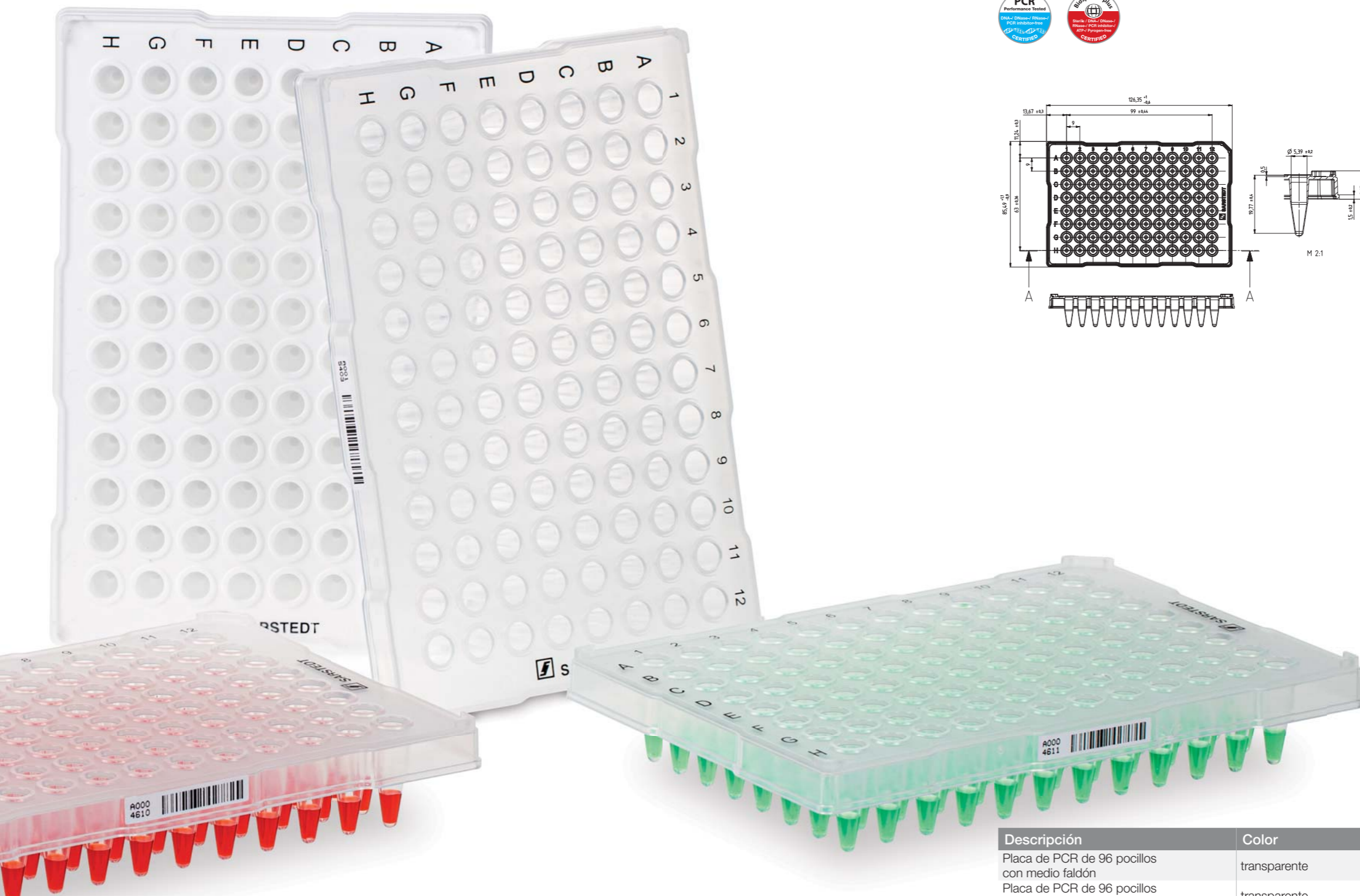
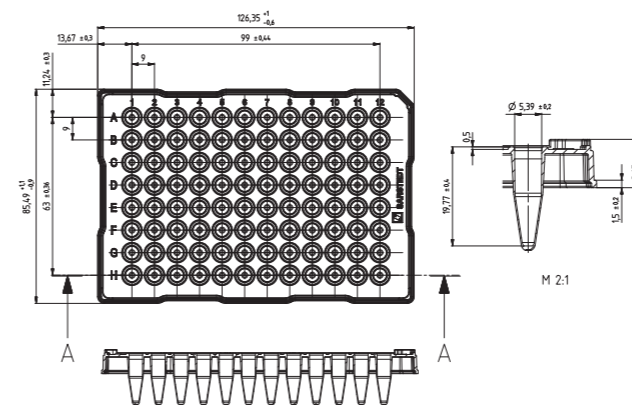


Se almacenaron 8 x 125 µl en una solución de BSA-FITC (1,0 µg/ml en PBS; ThermoFisher Scientific, ref. A23015) durante 24 horas en artículos de baja retención SARSTEDT y de 5 competidores. Tras la incubación, se transfirieron respectivamente 100 µl a placas ELISA negras (SARSTEDT, ref. 82.1581.220) bloqueadas previamente durante al menos 2 h con 1 x Roti-Block (Carl Roth, ref. A151.4), y se midieron en el lector de placas Infinite 200 pro (Tecan). El ensayo se repitió en 3 días sucesivos. A diferencia de la mayoría de los productos de la competencia analizados, el almacenamiento en los artículos de baja retención proteica SARSTEDT no produce ninguna pérdida significativa. Un producto de la competencia también presentó una tasa alta de recuperación.

Consejo:
Para el almacenamiento de muestras recomendamos el cierre con las tiras de tapas compatibles 65.989.002.

Descripción	Color	Pureza	Presentación	Ref.
Placa de PCR de 96 pocillos con faldón, de baja adherencia proteica	transparente		10 unidades / bolsa y 100 unidades / caja	72.1980.600
Tiras de tapas PCR	altamente transparentes		120 unidades / bolsa y 480 unidades / caja	65.989.002

Placas PCR con medio faldón – Perfil alto



Información sobre el producto:

Perfil: Perfil alto
 Volumen máximo de los pocillos: 0,2 ml
 Esquina recortada: A12

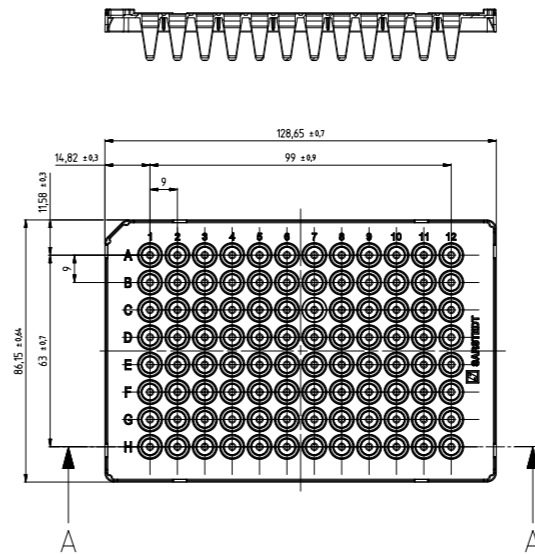
Características y ventajas:

- Las paredes de los pocillos extremadamente uniformes y finas permiten una transmisión del calor homogénea y ultrarrápida. Así se garantizan resultados fiables y altamente reproducibles.
- El borde elevado alrededor de cada pocillo protege contra la contaminación cruzada, y permite un sellado seguro con láminas, evitando así pérdidas por evaporación.
- El serigrafiado alfanumérico negro facilita la identificación y la trazabilidad de las muestras durante el llenado manual.
- La fabricación en condiciones de sala blanca y los ensayos biológicos independientes permiten las extraordinarias certificaciones de pureza «PCR Performance Tested» y Biosphere® plus.
- Verificación de la estanqueidad total de cada pocillo individual para máxima seguridad en caso de muestras valiosas.
- Apilado fácil y seguro para aprovechar espacios de almacenamiento limitados.

Descripción	Color	Pureza	Presentación	Ref.
Placa de PCR de 96 pocillos con medio faldón	transparente		10 unidades / bolsa y 100 unidades / caja	72.1979
Placa de PCR de 96 pocillos con medio faldón	transparente		1 unidad / blíster y 20 unidades / caja	72.1979.201
Placa de PCR de 96 pocillos con medio faldón	blanca (optimizada para PCRs)		10 unidades / bolsa y 100 unidades / caja	72.1979.010
Placa de PCR de 96 pocillos con medio faldón y código de barras	transparente		10 unidades / bolsa y 100 unidades / caja	72.1979.003
Placa de PCR de 96 pocillos con medio faldón, baja adherencia DNA	transparente		10 unidades / bolsa y 100 unidades / caja	72.1979.700
Placa de PCR de 96 pocillos con medio faldón y cubierta plana	transparente		5 unidades / bolsa y 100 unidades / caja	72.1979.102
Placa de PCR de 96 pocillos con medio faldón y cubierta plana	blanca (optimizada para PCRs)		5 unidades / bolsa y 100 unidades por caja	72.1979.132

Otras variantes de color y variantes con códigos de barras previa solicitud.
 Encontrará tiras de tapas y láminas de sellado adecuadas en las páginas 24-27.

Placas PCR con medio faldón – Perfil bajo



Información sobre el producto:

Perfil: Perfil bajo
 Volumen máximo de los pocillos: 0,1 ml
 Esquina recortada: A1

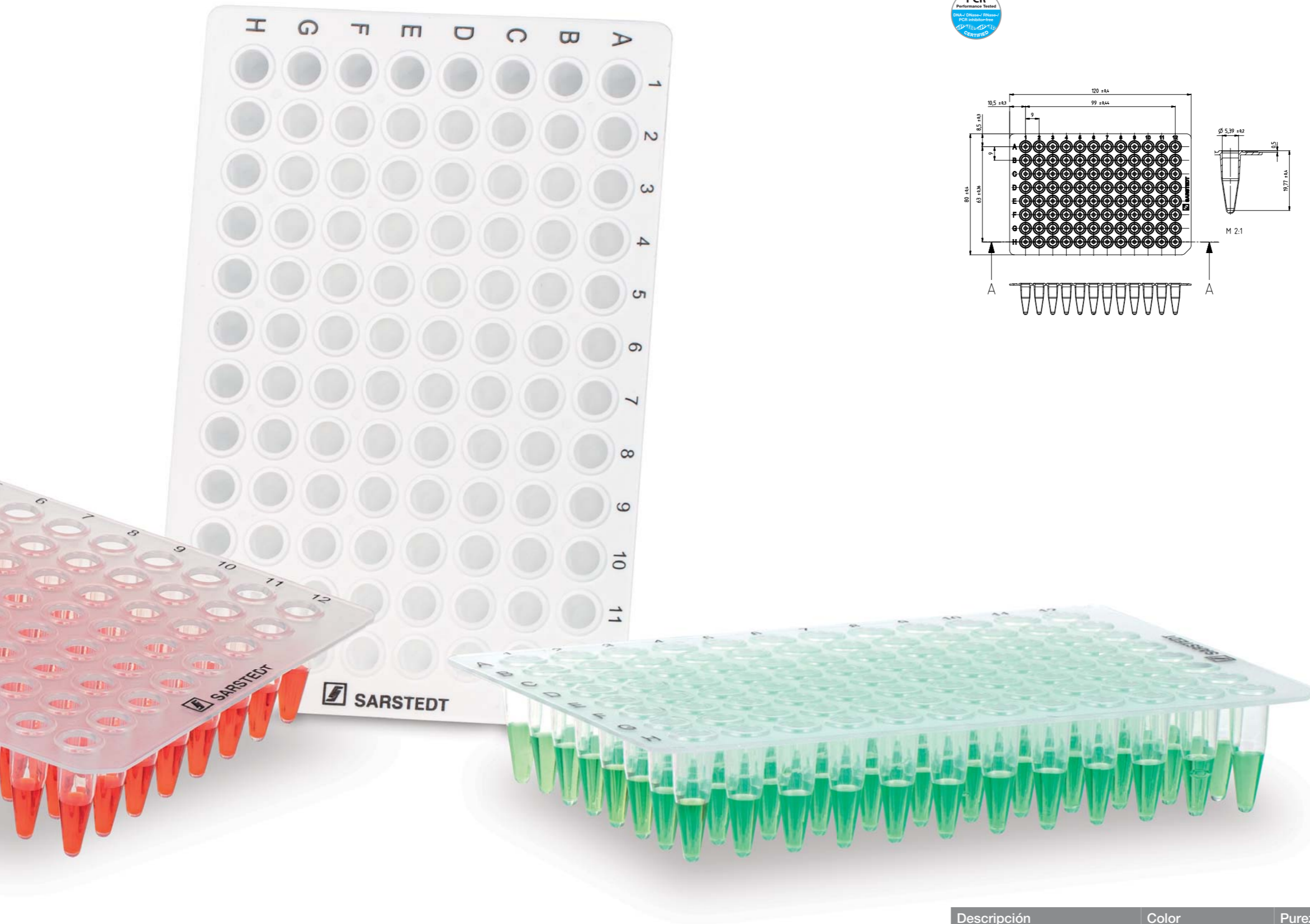
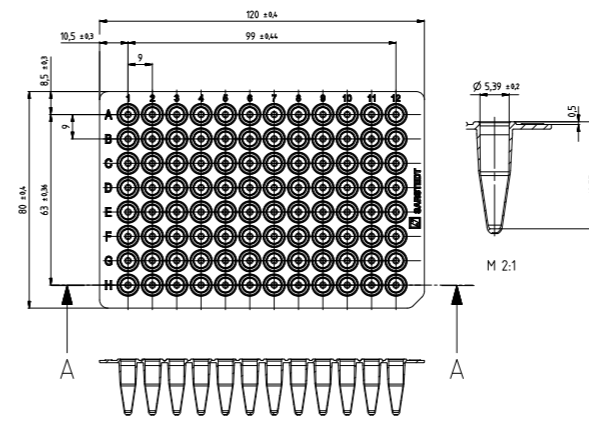
Características y ventajas:

- Las paredes de los pocillos extremadamente uniformes y finas permiten una transmisión del calor homogénea y ultrarrápida. Así se garantizan resultados fiables y altamente reproducibles.
- Las dimensiones conformes a la norma ANSI permiten utilizarlas en sistemas automatizados.
- El borde elevado alrededor de cada pocillo protege contra la contaminación cruzada, y permite un sellado seguro con láminas, evitando así pérdidas por evaporación.
- El serigrafiado alfanumérico negro facilita la identificación y la trazabilidad de las muestras durante el llenado manual.
- La fabricación en condiciones de sala blanca y los ensayos biológicos independientes permiten las extraordinarias certificaciones de pureza «PCR Performance Tested».
- Verificación de la estanqueidad total de cada pocillo individual para máxima seguridad en caso de muestras valiosas.
- Apilado fácil y seguro para aprovechar espacios de almacenamiento limitados.

Descripción	Color	Pureza	Presentación	Ref.
Placa de PCR de 96 pocillos con medio faldón	transparente		10 unidades / bolsa y 100 unidades / caja	72.1981
Placa de PCR de 96 pocillos con medio faldón	blanca (optimizada para PCRC)		10 unidades / bolsa y 100 unidades / caja	72.1981.010
Placa de PCR Lightcycler 480 con medio faldón, 96 pocillos	blanca (optimizada para PCRC)		25 unidades / bolsa y 100 unidades / caja	72.1982.202

Otras variantes de color y variantes con códigos de barras previa solicitud.
 Encontrará tiras de tapas y láminas de sellado adecuadas en las páginas 24-27.

Placas PCR sin faldón – Perfil alto



Información sobre el producto:

Perfil: Perfil alto
 Volumen máximo de los pocillos: 0,2 ml
 Esquina recortada: H12

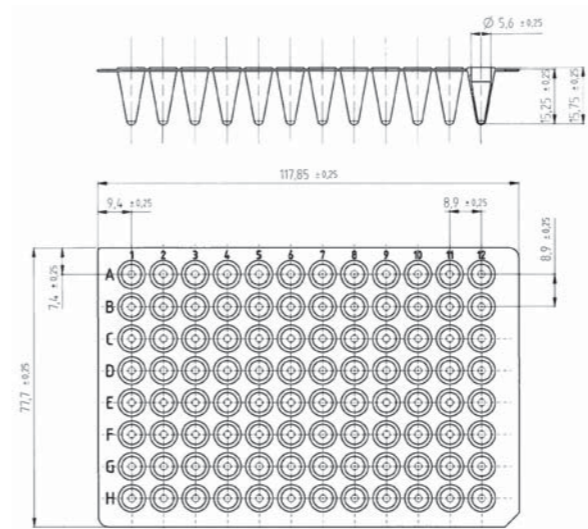
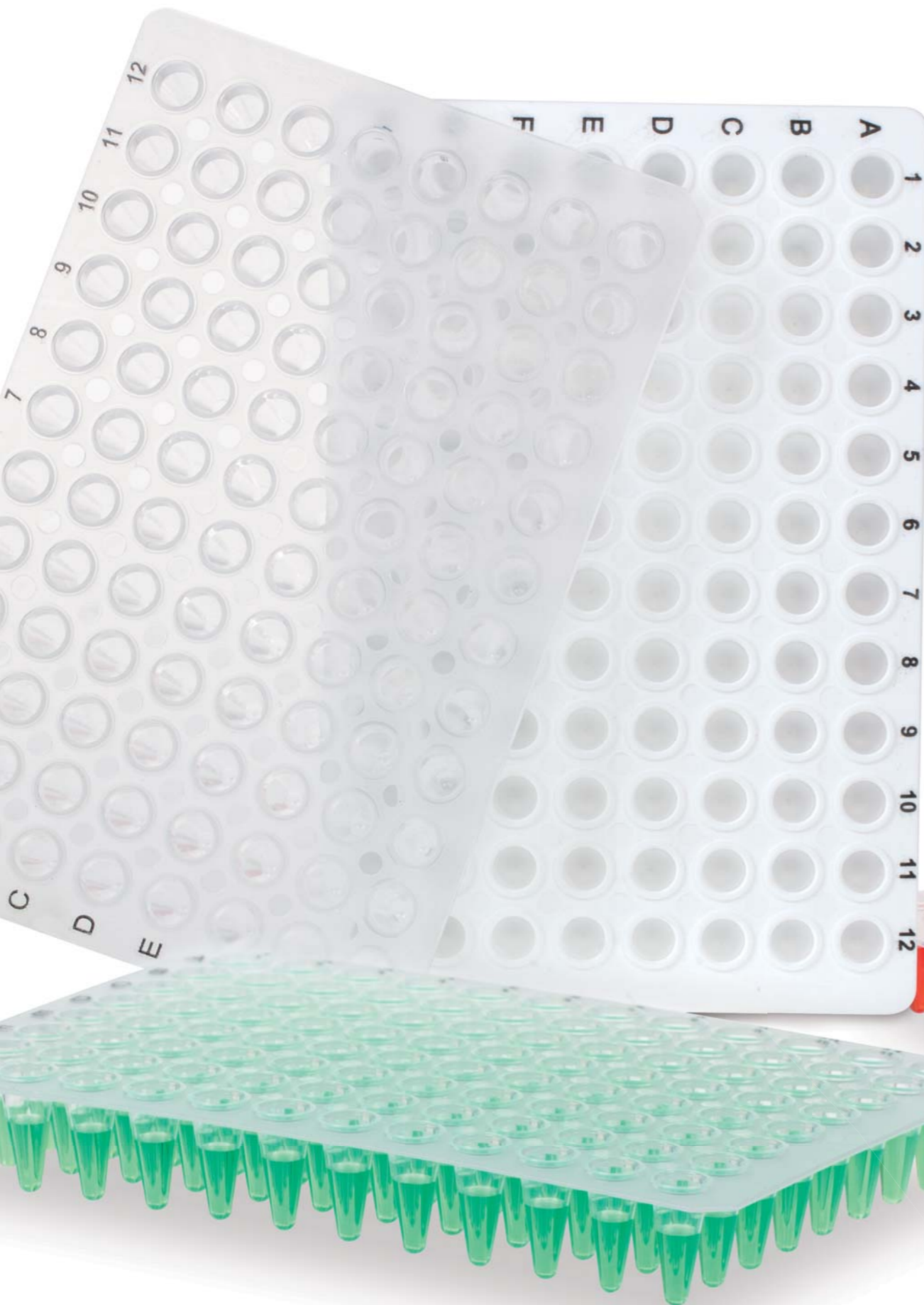
Características y ventajas:

- Fácil de cortar si el volumen de muestras es reducido o se requieren formatos de 24 o 48 pocillos.
- Las paredes de los pocillos extremadamente uniformes y finas permiten una transmisión del calor homogénea y ultrarrápida. Así se garantizan resultados fiables y altamente reproducibles.
- Las dimensiones conformes a la norma ANSI
- permiten utilizarlas en sistemas automatizados.
- El borde elevado alrededor de cada pocillo protege contra la contaminación cruzada, y permite un sellado seguro con láminas, evitando así pérdidas por evaporación.
- El serigrafiado alfanumérico negro facilita la identificación y la trazabilidad de las muestras durante el llenado manual.
- La fabricación en condiciones de sala blanca y los ensayos biológicos independientes permiten las extraordinarias certificaciones de pureza «PCR Performance Tested».
- Verificación de la estanqueidad total de cada pocillo individual para máxima seguridad en caso de muestras valiosas.
- Apilado fácil y seguro para aprovechar espacios de almacenamiento limitados.

Descripción	Color	Pureza	Presentación	Ref.
Placa de PCR de 96 pocillos sin faldón	transparente		10 unidades / bolsa y 100 unidades / caja	72.1978
Placa de PCR de 96 pocillos sin faldón	blanca (optimizada para PCRc)		10 unidades / bolsa y 100 unidades / caja	72.1978.010

Variantes de color previa solicitud.
 Encontrará tiras de tapas y láminas de sellado adecuadas en las páginas 24-27.

Placas PCR sin faldón – Perfil bajo



Información sobre el producto:

Perfil: Perfil bajo
 Volumen máximo de los pocillos: 0,1 ml
 Esquina recortada: H12

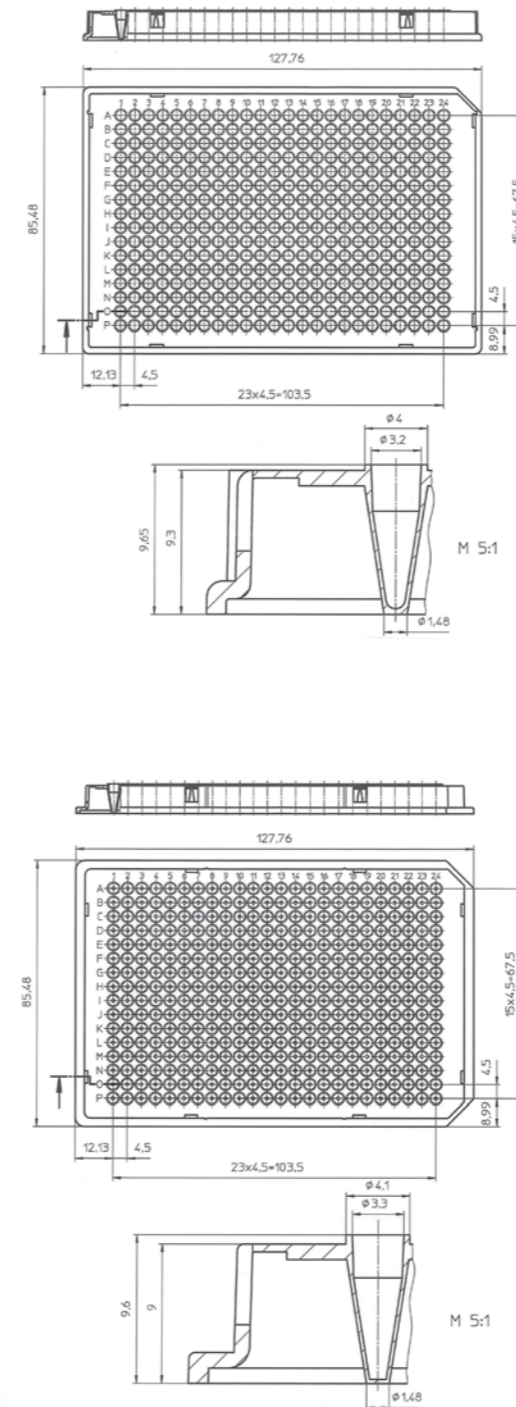
Características y ventajas:

- Fácil de cortar si el volumen de muestras es reducido o se requieren formatos de 24 o 48 pocillos.
- Las paredes de los pocillos extremadamente uniformes y finas permiten una transmisión del calor homogénea y ultrarrápida. Así se garantizan resultados fiables y altamente reproducibles.
- Las dimensiones conformes a la norma ANSI permiten utilizarlas en sistemas automatizados.
- El borde elevado alrededor de cada pocillo protege contra la contaminación cruzada, y permite un sellado seguro con láminas, evitando así pérdidas por evaporación.
- El serigrafiado alfanumérico negro facilita la identificación y la trazabilidad de las muestras durante el llenado manual.
- La fabricación en condiciones de sala blanca y los ensayos biológicos independientes permiten las extraordinarias certificaciones de pureza «PCR Performance Tested».
- Apilado fácil y seguro para aprovechar espacios de almacenamiento limitados.

Descripción	Color	Pureza	Presentación	Ref.
Placa de PCR de 96 pocillos sin faldón	transparente		20 unidades / bolsa y 100 unidades / caja	72.1977.202
Placa de PCR de 96 pocillos sin faldón	blanca (optimizada para PCRC)		20 unidades / bolsa y 100 unidades / caja	72.1977.232



Placas de PCR de 384 pocillos



Información sobre el producto:

Perfil: Perfil bajo
 Volumen máximo de los pocillos: 40 µl
 Esquina recortada: A24 o A24 y P24

Características y ventajas:

- Las paredes de los pocillos extremadamente uniformes y finas permiten una transmisión del calor homogénea y ultrarrápida. Así se garantizan resultados fiables y altamente reproducibles.
- Las dimensiones conformes a la norma ANSI permiten utilizarlas en sistemas automatizados.
- El borde elevado alrededor de cada pocillo protege contra la contaminación cruzada y permite un sellado seguro con láminas, evitando así pérdidas por evaporación.
- El serigrafado alfanumérico negro facilita la identificación y la trazabilidad de las muestras durante el llenado manual.
- La fabricación en condiciones de sala blanca y los ensayos biológicos independientes permiten las extraordinarias certificaciones de pureza «PCR Performance Tested».

Descripción	Color	Pureza	Presentación	Ref.
Placa de PCR de 384 pocillos con faldón	transparente		25 unidades / bolsa y 50 unidades / caja	72.1984.202
Placa de PCR de 384 pocillos con faldón	blanca (optimizada para PCRC)		50 unidades / bolsa y 100 unidades / caja	72.1985.202

Placas de PCR Multiply® – Tabla de compatibilidad

Número de pocillos	96	96	96	96	96	384
Medio faldón / faldón	sin	sin	medio	con	medio	con
Perfil	alto	alto	alto	bajo	bajo	-
Referencia placas de 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® 96 pocillos						
qTOWER 2.0/2.2 SP						
SpeedCycler® 96 pocillos SP & SPR						
TAdvanced						
TOne						
TOptical						
TRobot 96 pocillos						
TRobot 384 pocillos						
Familia TProfessional 96 pocillos (excepto TRIO)						
Familia TProfessional 384 pocillos (excepto 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 & 12)						
StepOne Plus™						
Veriti® 96 pocillos / 384 pocillos						
Veriti® Fast 96 pocillos						
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						

Leyenda: ● = recomendado = no se ha realizado comprobación *con adaptador correspondiente de ABI

La tabla de compatibilidad constituye una recomendación de utilización para los productos indicados. Téngase en cuenta que no comprobamos sistemáticamente la compatibilidad de los artículos con los aparatos indicados. En consecuencia, esta propiedad del producto no está garantizada.

Número de pocillos	96 preinsertada	96	96	96	96	384	96	384
Medio faldón / faldón	sin	sin	medio	con	medio	con	con	con
Perfil	alto	alto	alto	bajo	bajo	-	«Lightcycler»	«Lightcycler»
Referencia placas de 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 pocillos								
Palm Cycler 384 pocillos								

Eppendorf®

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

Ericom®

Deltacycler								
SingleBlock								
TwinBlock								

MWG®

Primus 96 pocillos								
Primus 384 pocillos								
The Q-Lifecycler								

Roche®

Lightcycler® 96 System								
Lightcycler® 480 System								

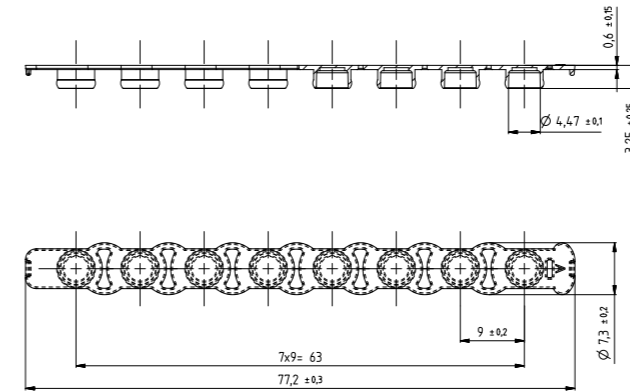
Stratagene® / Agilent®

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

Techne®

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

Tiras de tapas para PCR



Consejo:
Para el almacenamiento de muestras en placas de PCR recomendamos el cierre con tiras de tapas, para facilitar la apertura y el resellado.

Características y ventajas:

- Adecuadas para el cierre de placas y cadenas para PCR.
- Tiras de tapas altamente transparentes, optimizadas para PCR en tiempo real y otras aplicaciones basadas en fluorescencia.
- Las tiras de tapas y las placas o cadenas PCR usadas conjuntamente garantizan un cierre hermético.
- Fácil orientación gracias al marcado direccional de los extremos de la tira de tapas.
- Compatibilidad universal de las tiras de tapas, tanto con cadenas como con placas de PCR.
- La fabricación en condiciones de sala blanca y los ensayos biológicos independientes permiten las extraordinarias certificaciones de pureza «PCR Performance Tested» y Biosphere® plus.

Descripción	Color	Pureza	Indicadas para	Presentación	Ref.
Tiras de tapas 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	12 unidades / bolsa y 240 unidades / caja	65.989
Tiras de tapas PCR	altamente transparentes		72.1981 72.1981.010 72.985.002 72.985.092 72.985.992	120 unidades / bolsa y 480 unidades / caja	65.989.002
Tiras de tapas PCR	transparentes		72.1979.102 72.1979.132 72.1982.202	12 unidades / bolsa y 1.200 unidades / caja	65.1998.400

Láminas de sellado adhesivas

El sellado hermético de placas de microensayo de polipropileno, poliestireno y policarbonato evita la evaporación y protege las muestras durante la aplicación, el almacenamiento de muestras y el envío. Dicho sellado requiere materiales de lámina diseñados especialmente.

Puede elegir entre diferentes láminas de sellado SARSTEDT, especialmente diseñadas para los exigentes requisitos en PCR, almacenamiento de principios activos y cribado de alto rendimiento. Todas las láminas se fabrican en condiciones de sala blanca, a fin de evitar la contaminación con ADNAsas/ARNAsas y ácidos nucleicos. Todas las láminas son compatibles con soluciones acuosas y disolventes orgánicos, p. ej. DMSO, acetonitrilo y metanol.

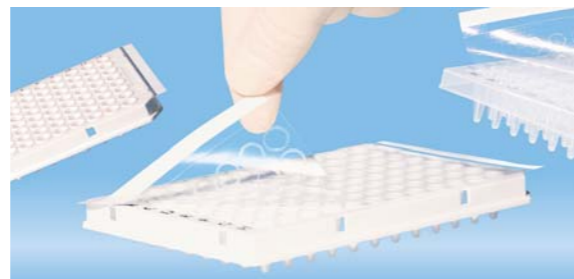


Lámina adhesiva altamente transparente para PCR cuantitativa en tiempo real (PCRc) • REF 95.1999

La lámina de 50 µm de espesor está recubierta con un adhesivo de gran transparencia y sin estrías, que a temperatura ambiente solo se adhiere ligeramente. Esto facilita la manipulación. Solo se adherirá con fuerza al presionar la lámina y minimiza las pérdidas por evaporación.

- Lámina altamente transparente diseñada especialmente para PCR en tiempo real (PCRc) y otras aplicaciones basadas en fluorescencia.
- Sellado seguro gracias al adhesivo innovador.
- Sin adhesión molesta de los guantes al aplicar la lámina

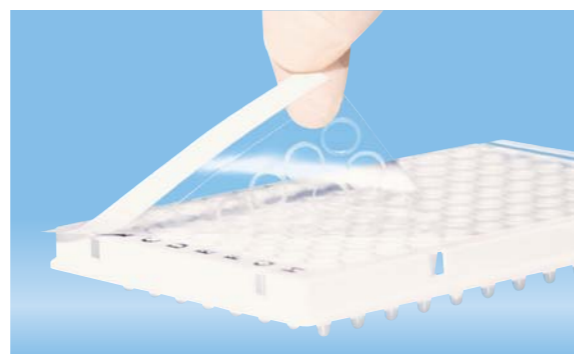


Lámina adhesiva transparente para PCR cuantitativa en tiempo real (PCRc) • REF 95.1993

La lámina está compuesta por una lámina de poliéster de 50 µm de espesor especialmente transparente, recubierta con una fina capa de adhesivo.

- Transparencia elevada
- Alta protección contra la evaporación



Lámina adhesiva transparente para PCR • REF 95.1994

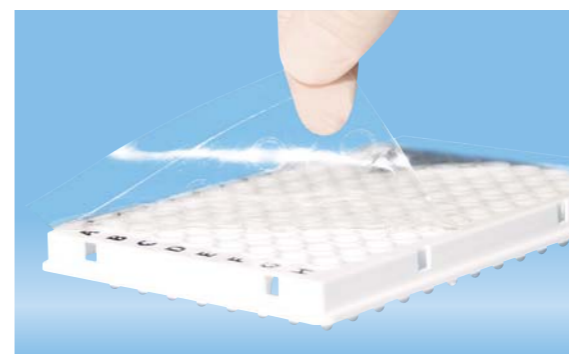
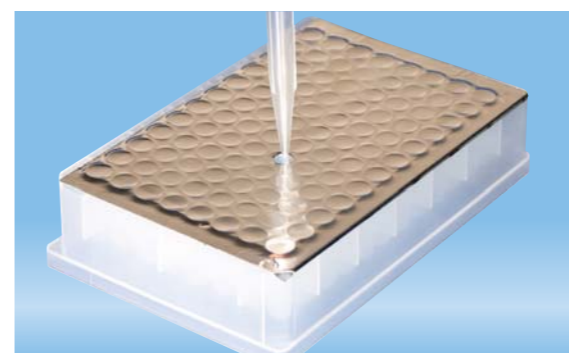


Lámina ópticamente transparente para PCR estándar y en tiempo real (PCRc)

- Ideal para el almacenamiento de muestras a temperaturas de hasta -70 °C.

Lámina adhesiva de aluminio para PCR y almacenamiento de muestras • REF 95.1995



La lámina de aluminio resistente al calor, robusta y perforable de 38 µm de espesor destaca por su alta protección contra la evaporación y resistencia a los disolventes. Las tiras de aplicación laterales perforadas se separan con facilidad tras la colocación.

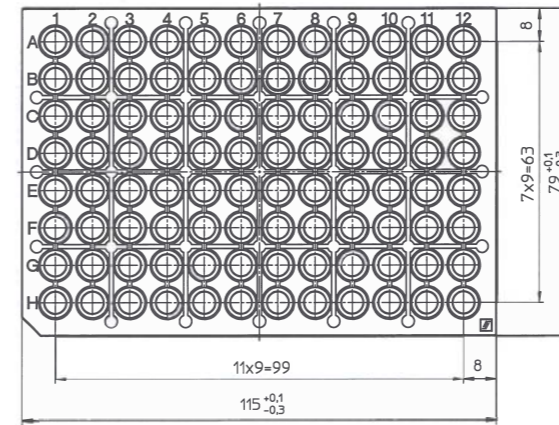
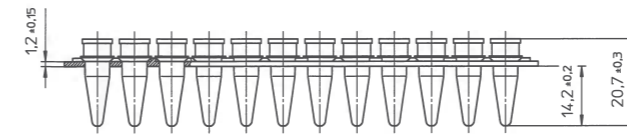
- La lámina de aluminio se puede perforar fácilmente con las puntas de pipeta.
- Ideal para el almacenamiento de muestras / principios activos hasta -70 °C.

Descripción	Aplicación	Propiedades especiales	Óptica	Perforable	Intervalo de temperatura funcional	Presentación	Referencia
Lámina adhesiva de alta transparencia óptica para PCRc	PCRc, análisis por fluorescencia	Adhesivo altamente transparente, sensible al calor, tasas de evaporación mínimas	+	no	De -80 °C a 100 °C	100 láminas / caja interior	95.1999
Lámina transparente para PCR	PCR, PCRc	Material fino, elevada transparencia óptica	+	no	De -40 °C a 120 °C	100 láminas / caja interior	95.1993
Lámina transparente para PCR	PCR, almacenamiento de muestras	Gran fuerza de adhesión, elevada resistencia química	+	no	De -70 °C a 105 °C	100 láminas / caja interior	95.1994
Lámina adhesiva de aluminio	Almacenamiento de muestras, PCR	Perforable, fotoprotección de las muestras, elevada resistencia química	-	sí	De -70 °C a 105 °C	100 láminas / caja interior	95.1995

¿Qué lámina es la adecuada para mi aplicación?

	Propiedades de la lámina	Referencia
PCR en tiempo real (PCRc)	adhesivo encapsulado	95.1999
	Lámina estándar	95.1993
PCR en punto final	Aluminio, perforable	95.1995
	transparente, gran fuerza de adhesión	95.1994
Almacenamiento de muestras	Aluminio, perforable	95.1995
	transparente, gran fuerza de adhesión	95.1994

Preinsertada de forma práctica – la alternativa a las placas de PCR de 2 componentes con marco de policarbonato

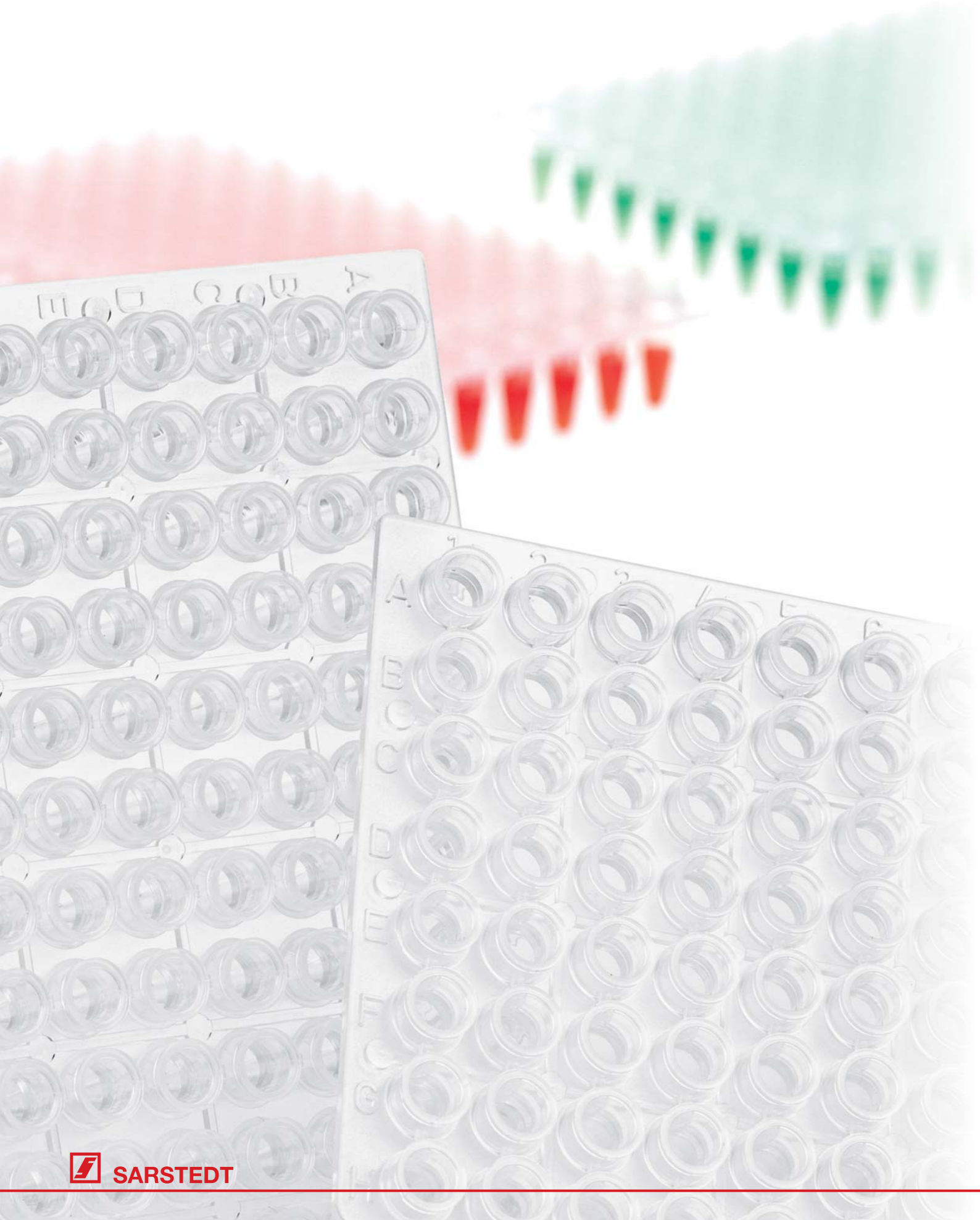


Información sobre el producto:
 Perfil: Perfil alto
 Volumen máximo de los pocillos: 0,2 ml

12 tiras para PCR preinsertadas en la bandeja de trabajo para PCR, con certificación de pureza máxima

Características y ventajas:

- Versión Biosphere® plus, envasada individualmente de forma estéril
- Obturable con tira de tapas altamente transparente REF 65.989
- Marco de policarbonato
- Apto para el sistema de gradillas (ver página 37)



Descripción	Color	Pureza	Presentación	Ref.
Cadenas para PCR de 96 pocillos en bandeja de trabajo	transparente		envasadas individualmente en bolsa y 20 unidades / caja	72.985
Tira de tapas PCR, Biosphere® plus	altamente transparente		12 unidades / bolsa y 240 unidades / caja	65.989

Cadenas para PCR con tira de tapas por separado



Información sobre el producto:

Perfil: Perfil alto
Volumen máximo de los pocillos: 0,2 ml

Características y ventajas:

- Tiras de tapas y cadenas para PCR optimizadas y sincronizadas, para garantizar un cierre hermético.
- Ausencia de torsión, doblado y rotura - Los puentes de unión reforzados evitan que las tiras para PCR se comben.
- Fácil orientación gracias al marcado direccional de los extremos de la tira de tapas (protuberancia unilateral).
- Las paredes de los pocillos extremadamente uniformes y finas permiten una transmisión del calor homogénea y ultrarrápida. Así se garantizan resultados fiables y altamente reproducibles.
- Compatibilidad universal de las tiras de tapas, tanto con cadenas como con placas de PCR.
- La fabricación en condiciones de sala blanca y los ensayos biológicos independientes permiten las extraordinarias certificaciones de pureza «PCR Performance Tested» y Biosphere® plus.



Descripción	Color	Pureza	Presentación	Ref.
Cadena para PCR de 8 pocillos sin tapa incorporada	transparente		120 unidades / bolsa y 480 unidades / caja	72.985.002
Cadena para PCR de 8 pocillos sin tapa incorporada	blanca (optimizada para PCRc)		120 unidades / bolsa y 480 unidades / caja	72.985.092
Cadena para PCR de 8 pocillos sin tapa incorporada	mezcla de colores (rojo, verde, azul, lila)		resp. 120 unidades de un color / bolsa y 480 unidades / caja	72.985.992
Tira de tapas altamente transparente	transparente		120 unidades / bolsa y 480 unidades / caja	65.989.002

Otras variantes de color previa solicitud.

Cadenas para PCR con tira de tapas por separado

Información sobre el producto:

Perfil: Perfil bajo
 Volumen máximo de los pocillos: 0,1 ml



Características y ventajas:

- Tiras de tapas y tiras para PCR optimizadas y sincronizadas, para garantizar una obturación hermética.
- Las paredes de los pocillos extremadamente uniformes y finas permiten una transmisión del calor homogénea y ultrarrápida. Así se garantizan resultados fiables y altamente reproducibles.
- La fabricación en condiciones de sala blanca y los ensayos biológicos independientes permiten las extraordinarias certificaciones de pureza «PCR Performance Tested».
- Envase combinado con tira de tapas.



Descripción	Color	Pureza	Presentación	Ref.
Cadena para PCR de 8 pocillos sin tapa incorporada	transparente		125 unidades por bolsa y 1.250 unidades por caja de cada artículo	72.982.002
Cadena para PCR de 8 pocillos sin tapa incorporada	blanca (optimizada para PCRc)		125 unidades por bolsa y 1.250 unidades por caja de cada artículo	72.982.092

Cadenas para PCR con tapas sujetas

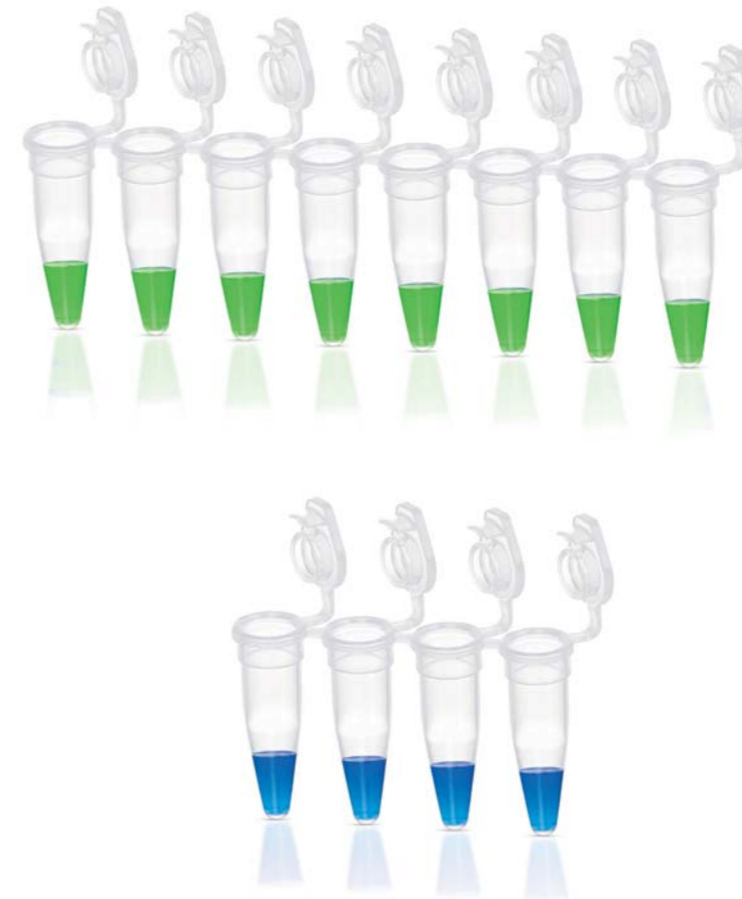


Información sobre el producto:

Perfil: Perfil alto
 Volumen máximo de los pocillos: 0,2 ml

Características y ventajas:

- Mayor seguridad sin comprometer la manipulación – la protección anticontaminación integrada evita el contacto accidental con la superficie interior de la tapa.
- Ausencia de torsión, doblado o rotura
- Los puentes de unión reforzados evitan que las tiras para PCR se comben.
- Tapa plana con gran superficie para rotulación.
- Las paredes de los pocillos extremadamente uniformes y finas permiten una transmisión del calor homogénea y ultrarrápida. Así se garantizan resultados fiables y altamente reproducibles.
- La fabricación en condiciones de sala blanca y los ensayos biológicos independientes permiten las extraordinarias certificaciones de pureza «PCR Performance Tested» y Biosphere® plus.



Descripción	Color	Pureza	Presentación	Ref.
Cadena para PCR de 8 pocillos con tapas incorporadas	transparente		120 unidades / bolsa y 480 unidades / caja	72.991.002
Cadena para PCR de 8 pocillos con tapas incorporadas	mezcla de colores (rojo, verde, azul, lila)		resp. 120 unidades de un color / bolsa y 480 unidades / caja	72.991.992
Cadena para PCR de 4 pocillos con tapas incorporadas	transparente		120 unidades / bolsa y 480 unidades / caja	72.990.002
Cadena para PCR de 4 pocillos con tapas incorporadas	transparente		50 unidades / bolsa y 400 unidades / caja	72.990
Cadena para PCR de 4 pocillos con tapas incorporadas	mezcla de colores (rojo, verde, azul, lila)		120 unidades de un color por bolsa y 480 unidades / caja e cada color	72.990.992

Tiras para PCR Low Profile (0,1 ml) con tapas montadas

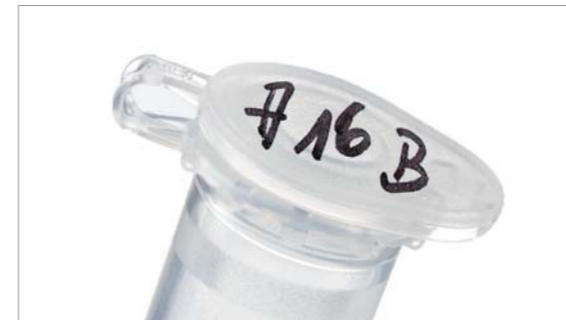
Descripción	Color	Pureza	Presentación	Ref.
Cadena para PCR de 8 pocillos con tapas incorporadas	transparente		12 unidades / bolsa y 1.200 unidades / caja	72.991.103

Microtubos para PCR con tapas sujetas



Información sobre el producto:

Perfil: Perfil alto
 Volumen máximo de los pocillos: 0,2 ml y 0,5 ml



Características y ventajas:

- Mayor seguridad sin comprometer la manipulación – la protección anticontaminación integrada evita el contacto accidental con la superficie interior de la tapa.
- Microtubos de 0,5 ml aptos para el uso con el fluorómetro Qubit™
- Tapa plana con gran superficie para rotulación.
- Las paredes de los pocillos extremadamente uniformes y finas permiten una transmisión del calor homogénea y ultrarrápida. Así se garantizan resultados fiables y altamente reproducibles.
- La fabricación en condiciones de sala blanca y los ensayos biológicos independientes permiten las extraordinarias certificaciones de pureza «PCR Performance Tested» y Biosphere® plus.



Consejo:
 Por principio, siempre debe llenar el bloque del ciclador uniformemente. Así se logra una presión homogénea de la tapa del ciclador sobre los recipientes de PCR y una distribución más regular del calor.



Descripción	Color	Pureza	Presentación	Ref.
Microtubo individual para PCR de 0,2 ml con tapa incorporada	transparente		500 unidades / bolsa y 2.000 unidades / caja	72.737.002
Microtubo individual para PCR de 0,2 ml con tapa incorporada	transparente		250 unidades / bolsa y 2.000 unidades / caja	72.737
Microtubo individual para PCR de 0,2 ml con tapa incorporada	mezcla de colores (rojo, naranja, verde, azul, lila, amarillo)		500 unidades de cada color / bolsa y 3.000 unidades caja	72.737.992
Microtubo individual para PCR de 0,5 ml con tapa incorporada	transparente		500 unidades / bolsa y 2.000 unidades / caja	72.735.002
Microtubo individual para PCR de 0,5 ml con tapa incorporada	transparente		100 unidades / bolsa y 1.000 unidades / caja	72.735.100
Microtubo individual para PCR de 0,5 ml con tapa incorporada	mezcla de colores (rojo, naranja, verde, azul, lila, amarillo)		500 unidades de cada color / bolsa y 3.000 unidades caja	72.735.992

Sistemas de gradillas y de pipeteado inteligentes

Refrigeración fiable de sus valiosas muestras – la gradilla para PCR IsoFreeze®

La preparación de muestras requiere a menudo una refrigeración continua y fiable de las muestras. Por ello, SARSTEDT ofrece con las gradillas para PCR IsoFreeze® una estación de pipeteado y almacenamiento con control fiable de la temperatura para aplicaciones sensibles a la temperatura.

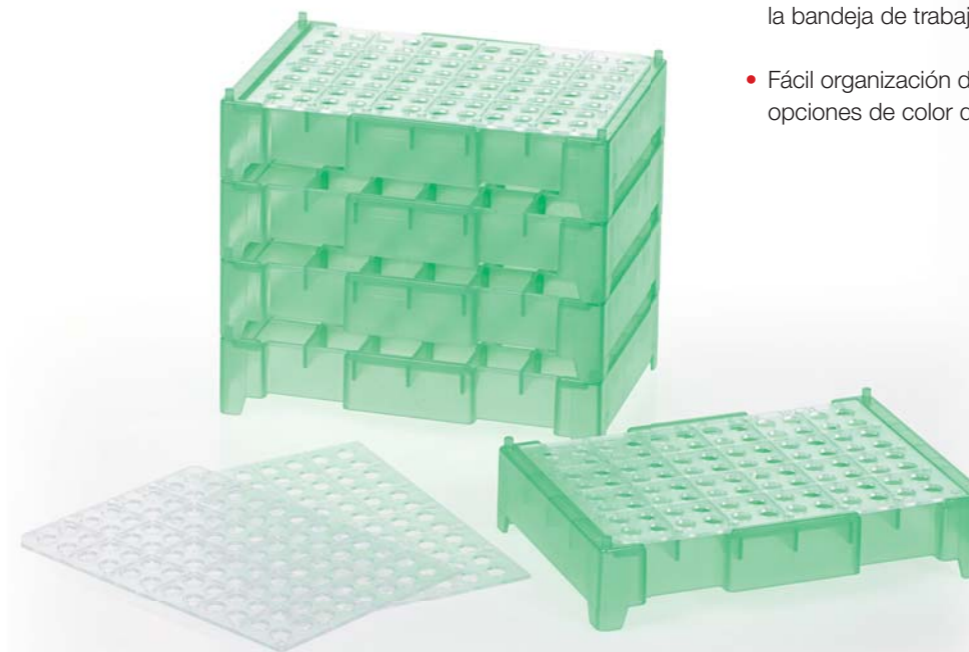
Características y ventajas:

- Claro cambio de color de lila a rosa al sobrepasar el intervalo de temperatura óptimo (a partir de 7 °C).
- Mínimo riesgo de contaminación, al poder prescindir de la conservación de las muestras en hielo.
- A temperatura ambiente normal, la temperatura de la muestra se mantiene en el intervalo óptimo hasta 3 horas (con la tapa colocada)
- Formato 8 x 12 para placas, cadenas y microtubos para PCR de 0,1 ml y 0,2 ml o formato 6 x 4, apto para microtubos de 1,5 y 2 ml.

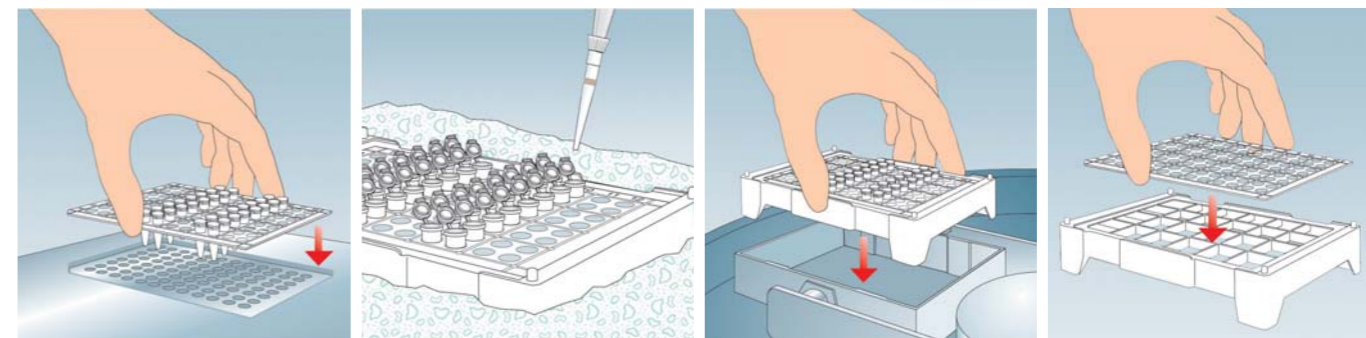
Descripción	Color	Presentación	Ref.
Gradilla IsoFreeze® PCR	Formato de 96 de pocillos	2 unidades / caja	95.984
Gradilla IsoFreeze® MCT	Formato de 24 de pocillos	1 unidades / caja	95.983



El sistema de gradillas RackSystem de SARSTEDT – la estación de almacenamiento y pipeteado flexible



- Sistema flexible de 2 componentes, compuesto por bandeja de trabajo y estación base
- Manejo ágil de cadenas para PCR y microtubos individuales gracias a la posibilidad de transferirlos al termociclador con la bandeja de trabajo
- Fácil organización del laboratorio gracias a las diferentes opciones de color de la estación base



Descripción	Color	Ref.
Bandeja de trabajo de 96 pocillos	5 unidades / bolsa	95.987.002
Estación base transparente	5 unidades / caja	95.988
Estación base roja	5 unidades / caja	95.988.001
Estación base azul	5 unidades / caja	95.988.002
Estación base verde	5 unidades / caja	95.988.003
Estación base amarilla	5 unidades por caja	95.988.004

Consejos/instrucciones para reacciones PCR correctas

Recomendaciones generales

- Conserve el ADN siempre en tampón Tris-EDTA (pH 8) y no en agua para evitar la degradación.
- Utilice puntas de pipeta con filtro y use guantes para evitar la contaminación (cruzada).
- Evite pipetear las preparaciones de reacción en bancos estériles ventilados, ya que podría aumentar el riesgo de contaminación cruzada.
- Pipetee las preparaciones de reacción en un lugar limpio que se utilice para el menor número posible de otras aplicaciones biológicas moleculares.
- Al pipetear la preparación de reacción, añada la ADN polimerasa como último componente.
- Evite descongelar y volver a congelar repetidamente los nucleótidos (dNTPs); se podrían destruir. Se recomienda alicuotar los nucleótidos (y los cebadores) y almacenar las alícuotas a -70 °C.
- Deje un minuto de tiempo de elongación para la amplificación por cada 1 kb de plantilla de ADN.
- Utilice consumibles que estén certificados como exentos de ADN, de ADNasa/ARNasa y de inhibidores de la PCR y evite esterilizar en autoclave los consumibles antes de utilizarlos; este paso entraña el riesgo de contaminar los productos con biomoléculas indeseadas.
- Cuando los recorte del gel, exponga los productos de PCR a la luz ultravioleta durante el menor tiempo posible, para evitar que se produzcan errores en la secuencia del ADN.

Instrucciones relativas a la utilización de una plantilla de ADN

- Para lograr la detección del producto de PCR en 25-30 ciclos, se requieren aproximadamente 100 copias de la plantilla. Utilice al menos 40 ciclos si es probable que solo haya menos de 10 copias del ADN de plantilla.
- Regla general: Utilice concentraciones de plantilla de 1 pg-1 ng cuando utilice ADN plasmídico y concentraciones de 1 ng-1 µg cuando utilice ADN genómico. Las concentraciones mayores de plantilla reducen la especificidad de la reacción y, en consecuencia, aumentan la aparición de productos de PCR inespecíficos.
- Compruebe fotométricamente la pureza de la plantilla de ADN (el cociente 260 nm / 280 nm debe ser mayor o igual a 1,8) para asegurarse de que la plantilla no esté contaminada con inhibidores de la PCR; si se detecta contaminación, utilice un kit de aislamiento de ADN o realice una precipitación con etanol.
- En caso necesario, compruebe mediante electroforesis en gel si la plantilla de ADN se ha degradado.

Instrucciones relativas a la utilización de los cebadores

- Regla general: Utilice una concentración final de cebador de 0,05-1 µM para cada cebador. Las concentraciones mayores de cebadores aumentan la aparición de productos de PCR inespecíficos, debido a la unión inespecífica de los cebadores. A menudo, una concentración de 0,2 µM por cebador es óptima en la reacción final.
- Los cebadores deben tener preferentemente una longitud de entre 20 y 30 nucleótidos.
- Lo ideal es que el contenido de GC de los cebadores se sitúe entre el 40 y el 60 % y que las moléculas de GC se distribuyan uniformemente a lo largo del cebador. Para optimizar la amplificación de los productos de PCR con alto contenido de GC, se puede añadir DMSO a la preparación de reacción. En caso necesario, las temperaturas de hibridación se deben ajustar si se utilizan aditivos como el DMSO, ya que las concentraciones elevadas pueden debilitar la unión del cebador. En este caso, utilice la menor concentración posible y no supere el 10 % en la preparación de análisis.
- Las temperaturas de hibridación (T_m) de la pareja de cebadores utilizada no deben diferir en más de 5 °C y encontrarse en un intervalo de temperatura de entre 50 y 72 °C.
- Utilice una temperatura de hibridación 0-5 °C inferior a la T_m calculada del cebador con la T_m más baja.

Lista de comprobación para la resolución de problemas de la PCR

Problema	Posible causa	Solución
No se trata de un producto de amplificación	Inhibidores de la PCR en la preparación de reacción	Utilice consumibles certificados como exentos de ADN, ADNasa/ARNasa y de inhibidores de la PCR. Compruebe fotométricamente la pureza de la plantilla de ADN para saber si la plantilla está contaminada con inhibidores de la PCR (fenoles, proteinasa K, K ⁺ , Na ⁺ , etc.). Si el cociente 260 nm / 280 nm es inferior a 1,8, utilice un kit de purificación de ADN o realice una precipitación con etanol para eliminar cualquier inhibidor de la PCR presente. Diluya la plantilla (y, en consecuencia, los inhibidores de la PCR) y, alternativamente, aumente la concentración de ADN polimerasa.
	La plantilla de PCR se ha degradado	Compruebe mediante electroforesis en gel si la plantilla de ADN se ha degradado. Realice un nuevo aislamiento de la plantilla si encuentra signos de degradación del ADN de partida (borrón de ADN, bandas demasiado pequeñas, etc.). Minimice la escisión del ADN durante el aislamiento. Conserve el ADN de plantilla en tampón Tris-EDTA (pH 8) para evitar su degradación.
	Condiciones de reacción subóptimas	Posiblemente se haya utilizado una temperatura de hibridación excesiva, un tiempo de desnaturalización excesivo o un número de ciclos insuficiente. Optimice la temperatura de hibridación disminuyéndola gradualmente en pasos de 1-2 °C, desnaturalice el ADN inicialmente 3 minutos (los tiempos de desnaturalización excesivos pueden degradar el ADN) y 30 segundos durante los ciclos de reacción o aumente el número de ciclos en 5 ciclos.
	Se ha omitido un componente en la preparación de reacción	Repita la PCR.
Productos de amplificación inespecíficos	Reactivos contaminados (p. ej., agua)	Los reactivos de la PCR (a menudo el agua utilizada) se pueden haber contaminado accidentalmente durante los procedimientos de pipeteado anteriores. Utilice reactivos de PCR nuevos.
	Condiciones de reacción subóptimas	Posiblemente se haya utilizado una temperatura de hibridación insuficiente, un número excesivo de ciclos o un tiempo de extensión demasiado largo. Las temperaturas de hibridación demasiado bajas favorecen la unión inespecífica del cebador. Intente determinar, por medio de un gradiente de temperatura, la mejor temperatura de hibridación que produzca el producto de PCR más puro. Los números de ciclo excesivos también provocan a veces la amplificación de productos PCR inespecíficos. Si aparecen productos PCR inespecíficos, reduzca a modo de prueba el número de ciclos en 5 ciclos. Los tiempos de elongación largos también favorecen la amplificación inespecífica. Utilice un tiempo de elongación lo más preciso posible en función del tamaño del producto de la PCR (para la amplificación por cada 1 kb de plantilla de ADN, las polimerasas Taq necesitan aproximadamente un minuto de tiempo de extensión).
	Demasiado Mg ²⁺ en la preparación de reacción	Las concentraciones de Mg ²⁺ excesivas aumentan la probabilidad de unión inespecífica de los cebadores y, en consecuencia, la formación de productos de PCR indeseados. En este caso, reduzca la cantidad utilizada de Mg ²⁺ .
	La plantilla de PCR se ha degradado	Compruebe mediante electroforesis en gel si la plantilla de ADN se ha degradado. Realice un nuevo aislamiento de la plantilla si encuentra signos de degradación del ADN de partida (borrón de ADN, bandas demasiado pequeñas, etc.). Minimice la escisión del ADN durante el aislamiento. Conserve el ADN de plantilla en tampón Tris-EDTA (pH 8) para evitar su degradación.

SARSTEDT S.A.U.

Camí de Can Grau, 24
Pol. Ind. Valldoríolf
08430 La Roca del Vallès

Tel: +34 93 846 41 03

Fax: +34 93 846 39 78

info.es@sarstedt.com

www.sarstedt.com