



NEW GENERATION OF DIAGNOSTICS

NewGene SALSeq

Utilizado para amplificação do DNA de *Salmonella enterica* pela Reação em Cadeia da Polimerase – PCR a partir de amostras previamente processadas com **NewGene Prep** e **NewGene Preamp**.

A PCR utiliza iniciadores específicos (*primers*),

que se ligam exclusivamente ao DNA alvo. A reação é desencadeada pela ligação dos *primers* ao DNA alvo e sua subsequente amplificação pela enzima Taq polimerase.

Componentes

Componente	Composição	Quantidade
Mastermix SALSeq	Tampão, dNTP's, água, primers	4 tubos*
Enzima	Taq polimerase	1 tubo

*Cada tubo corresponde a 25 reações. Cada kit é próprio para 100 reações.

** O fracionamento resultará em perda do total de reações do kit

Equipamentos e insumos não fornecidos

- Microcentrífuga para tubos de 1,5 mL;
- Termociclador p/ PCR;
- Micropipetas de volumes variados;
- Banho-maria;
- Agitador de tubos tipo vortex;
- Ponteiras com barreira descartáveis;
- Placas para reação de PCR;
- Filme plástico para vedação da placa;
- Estante para placa;
- Álcool 70% (asepsia);
- Luvas de procedimento sem talco.

Transporte, estocagem e estabilidade

- O transporte é realizado preferencialmente sob refrigeração em gelo artificial, não afetando o desempenho dos produtos.
- Após o recebimento os reagentes devem ser conservados em freezer.

Período de validade

Os componentes do **NewGene SALSeq** são estáveis por 1 ano a partir da data de fabricação impressa, respeitadas as condições de armazenagem descritas anteriormente.

Indicação

Exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro*.

Simbios Produtos Biotecnológicos Ltda.
Rua Cai, 541 - Bairro Vila Princesa Izabel
94940-030 - Cachoeirinha - RS
Fone: 51 3074 7400
CNPJ 95.237.301/0001-40
Inscrição Estadual: 177/0189987
Inscrição Municipal: 138585



Utilização

Atenção - sempre considere o texto da bula que acompanha o produto.

ANTES

- Manter as **amostras** e o **Mastermix** na bancada até que alcancem temperatura próxima à ambiental.
- Verificar se o banho-maria está a 60°C (± 5°C).
- Retirar a Taq Polimerase do freezer e acondicioná-la em caixa de isopor com gelo durante o uso.
- Limpar a bancada com álcool 70% antes do início das atividades e colocar luvas de procedimento sem talco.

Preparo dos componentes

Mastermix	<ul style="list-style-type: none"> • Em cada tubo Mastermix adicionar 5 µL de Taq Polimerase e vortexar. • Centrifugar por 30s a 10.000 rpm. • Aliquotar 28 µL nos <i>wells</i> (poços) da placa.
------------------	--

Amplificação

1. Vortexar e colocar o produto de extração advindo da aplicação de **NewGene Preamp** no banho a 60°C (± 5°C) por 5 minutos.
2. Centrifugá-lo, por 3 minutos a 10.000 rpm, para separar a amostra da sílica.
3. Aplicar **2 µL** de amostra na placa para amplificação.
Importante: este volume deve ser retirado da fase líquida, evitando o arraste de sílica para o mix. Preservar o volume não utilizado das amostras no freezer para eventual reteste.
4. Após o término das aplicações, fechar a placa e retirar as bolhas (tomando o cuidado para que não subam gotas para a tampa).
5. Acondicionar a placa no termociclador PCR.
6. Iniciar corrida no termociclador, conforme especificado abaixo:

Desnaturação inicial: 95°C por 3 min			
40 ciclos:	Desnaturação: 95°C por 20 s	Anelamento: 60°C por 40 s	Extensão: 72°C por 60s

Avaliação

Após a amplificação,

I. Pré-avaliação em eletroforese.

OBS - Caso haja intervalo, armazenar em geladeira.

- **RESULTADOS POSITIVOS:** presença de banda do tamanho de 856 pb.
- **RESULTADOS NEGATIVOS:** ausência de banda do tamanho especificado acima.

II. Sequenciamento e Alinhamento das seqüências para genotipagem em comparação com banco fornecido pela Simbios Biotecnologia para MegAlign (solicite!), ou por BLAST com GenBank.

Suporte Técnico

Para assistência técnica e maiores informações entrar em contato com nosso Suporte Técnico pelo e-mail sac@newgene.com.br, acesse www.newgene.com.br ou pelo telefone (51) 3074-7400.

Responsável Técnico: Luciane Dubina Pinto – CRMV-RS6694