

## UNIVERSAL FAST PROBE qPCR MIX COM UDG

**Por favor, leia o manual cuidadosamente antes de usar**

**Cat. No. XP-700**

**Armazenamento: -20°C**

### Descrição:

O UNIVERSAL FAST PROBE QPCR MIX é fornecido em concentração 2X, consistindo em um reagente pré-misturado (pre-mix) otimizado para a amplificação e detecção de DNA via qPCR baseada em sondas (probe-based). A formulação permite a execução de ensaios singleplex, duplex ou multiplex em um único poço reacional, mediante a suplementação de iniciadores (primers), sondas e molde (template).

Este produto incorpora uma Taq Hot-Start DNA Polymerase de última geração — uma enzima geneticamente modificada e mediada por bloqueio por anticorpos. Este mecanismo de ativação térmica suprime a atividade polimerásica em temperaturas subótimas, mitigando a amplificação inespecífica. Em sinergia com um tampão reacional otimizado, o sistema potencializa significativamente a afinidade pelo molde, a eficiência de amplificação e a sensibilidade analítica na detecção de alvos em baixas concentrações.

Adicionalmente, a robustez da formulação confere elevada tolerância a interferentes e impurezas, tornando-a apta para diversos cenários diagnósticos. O UNIVERSAL FAST PROBE QPCR MIX suporta protocolos de amplificação rápida (fast cycling), permitindo a conclusão de 45 ciclos em aproximadamente 35 minutos. O sistema dUTP/UDG integrado atua à temperatura ambiente para degradar remanescentes de reações anteriores (carry-over contamination), assegurando a fidedignidade dos resultados experimentais.

### Características:

- Sistema de Prevenção de Contaminação: Utiliza a tecnologia dUTP/UDG (Uracila-DNA Glicosilase), que elimina produtos de PCR derivados de carry-over, assegurando a integridade e a especificidade dos resultados analíticos.
- Protocolo Ultrarrápido: Suporta ciclos térmicos acelerados, permitindo a conclusão de 45 ciclos em aproximadamente 35 minutos, sem comprometer a eficiência da amplificação.
- Versatilidade de Amostras: Validado para amplificação direta a partir de matrizes complexas, incluindo sangue total, homogeneizados de tecidos e swabs, reduzindo a necessidade de etapas exaustivas de purificação de DNA.
- Normalização Universal: Inclui o Corante de Referência Passiva Universal, permitindo a correção de variações ópticas e erros de pipetagem em uma ampla gama de termocicladores (sistemas com alta, baixa ou nenhuma dependência de ROX).

## Aplicação:

Detecção de DNA de animais, plantas e microrganismos por PCR quantitativa de fluorescência de sonda.

## Componentes do kit

| Componente                            | Volume (XP700-05) |
|---------------------------------------|-------------------|
| Fast Probe qPCR Mix UDG               | 5x1ml             |
| Universal Passive Reference Dye (50x) | 200µl             |
| Água                                  | 5ml               |

## Condições de qPCR recomendados (tomando como exemplo reação de 20 µl)

| Componente                            | Volume   | Concentração Final |
|---------------------------------------|----------|--------------------|
| Amostra                               | 1pg-1µg  | como requerido     |
| Primer Forward (10µM)                 | 0,4µl    | 0,2µM              |
| Primer Reverse (10µM)                 | 0,4µl    | 0,2µM              |
| Probe TaqMan (10µM)                   | 0,4µl    | 0,2µM              |
| Fast Probe qPCR Mix UDG               | 10µl     | 1x                 |
| Universal Passive Reference Dye (50x) | 0,4µl    | 1x                 |
| Água                                  | Variável | -                  |
| Volume total                          | 20µl     |                    |

## Nota:

- Certifique-se de descongelar bem e misturar bem antes do uso, evite bolhas excessivas causadas por agitações vigorosas, e a quantidade de cada componente no sistema de reação pode ser ajustada segundo os seguintes princípios:

- Concentração de primer: Se o sistema contiver múltiplos pares de primers, geralmente a concentração final de cada primer é 0,2µM, o que pode obter um efeito de amplificação melhor, e a concentração de primer também pode ser ajustada dentro de 0,1~0,5 µM de acordo com os resultados da reação.

- Concentração da sonda: Se o sistema contiver múltiplas sondas com diferentes sinais de fluorescência, a concentração final de cada sonda geralmente é de 0,2 µM, que pode ser ajustada dentro de 50~250 nM.

- Diluição do molde: a sensibilidade à reação da qPCR é extremamente alta, e a precisão da adição do molde tem grande impacto nos resultados quantitativos finais, por isso recomenda-se diluir o molde para uso; a quantidade de molde adicionada pode ser ajustada conforme necessário; se o molde for uma solução de stock de cDNA, o volume do molde não deve exceder 1/10 do volume total.

## Programa de Reação Padrão

| Passo                               | Temperatura | Tempo       | Ciclo        |
|-------------------------------------|-------------|-------------|--------------|
| Pré-denaturação                     | 95°C        | 5 minutos   | 1            |
| Denaturação                         | 95°C        | 5 segundos  | 40-45 ciclos |
| Anelamento/Extensão                 | 60°C        | 15 segundos |              |
| Aquisição do Sinal de Fluorescência |             |             |              |

## Programa de Reação Rápido

| Passo                               | Temperatura | Tempo         | Ciclo        |
|-------------------------------------|-------------|---------------|--------------|
| Pré-denaturação                     | 95°C        | 20 segundos   | 1            |
| Denaturação                         | 95°C        | 1-5 segundos  | 40-45 ciclos |
| Anelamento/Extensão                 | 60°C        | 1-10 segundos |              |
| Aquisição do Sinal de Fluorescência |             |               |              |

**Nota:** Para o primeiro uso, é necessário pré-experimento para confirmar se o instrumento de PCR em tempo real suporta o programa rápido. As taxas de aquecimento e resfriamento variam para cada modelo, e recomenda-se que o tempo total de amplificação de 45 ciclos não seja inferior a 30 minutos.

## Modelos de instrumentos adequados para corantes passivos de referência universal

· ABI Prism 7000/7300/7700/7900, ABI Step One, ABI Step One Plus, ABI 7900HT, ABI 7900HT Rápido; ABI Prism 7500, ABI Prism 7500 Fast, ABI QuantStudio Dx/3/5, ABI QuantStudio 6/7/12K Flex, ABI ViiA 7, Stratagene Mx3000P/Mx3005P/Mx4000 .

## Sem corante passivo de referência

· Roche LightCycler 480, Roche Light Cycler 96, MJ Research Chromo4, MJ Research Opticon 2, Takara TP-800, Bio-Rad iCycler iQ, Bio-Rad iCycler iQ5, Bio-Rad CFX96, Bio-Rad C1000 Thermal Cycler, Thermo Scientific Pikoreal 96, Qiagen

Corbett Rotor-Gene 6000, Qiagen Corbett Rotor-Gene G, Qiagen Corbett Rotor-Gene Q, Qiagen Corbett Rotor-Gene 3000.

**Apenas para uso em pesquisa, não para diagnóstico clínico.**

## Contatos:

- **Website:** [www.genexplore.com.br](http://www.genexplore.com.br)
- **E-mail:** [suporte@genexplore.com.br](mailto:suporte@genexplore.com.br)
- **Importado por:** Genexplore, Comércio, Importação e Exportação Ltda  
CNPJ: 62.359.822/0001-10 / I.E: 155.425.101.110  
Av: Primeiro de Maio 379 – sala 04 – Ribeirão Preto – SP – 14030-390