

## One-Step Green RT-qPCR SuperMix

Por favor, leia o manual cuidadosamente antes de usar

Cat. No. XP-311

Armazenamento: -20°C

### Descrição:

O **One-Step Green RT-qPCR SuperMix** foi desenvolvido para a realização de RT-qPCR em etapa única (*one-step*), apresentando elevada sensibilidade analítica, alta eficiência de síntese e elevado rendimento de amplificação. O ensaio baseia-se na síntese inicial da primeira fita de cDNA a partir de moldes de RNA, utilizando iniciadores (*primers*) gene-específicos anti-senso (*reverse*). Na sequência, executa-se a PCR quantitativa em tempo real (qPCR) empregando o cDNA recém-sintetizado como molde e o par de iniciadores senso (*forward*) e anti-senso (*reverse*), integrando a transcrição reversa e a reação de qPCR em um único tubo (*single-tube format*).

### Características:

- **Eficiência Reacional e Mitigação de Contaminações:** O One-Step Green RT-qPCR SuperMix atua na síntese eficiente da primeira fita de cDNA a partir do RNA.
- **Alta Sensibilidade e Especificidade:** Elevada especificidade de amplificação e reduzido limite de detecção, assegurando maior reprodutibilidade e exatidão nos resultados analíticos.

### Aplicações

- Detecção e quantificação de alvos genéticos de alta e baixa abundância (*high and low-copy genes*).
- Detecção de vírus de RNA e quantificação de amostras com concentrações vestigiais de RNA.

### Conteúdo do kit:

| Componente                      | Volume |
|---------------------------------|--------|
| One-Step RT/RI SuperMix         | 160µl  |
| One-Step Green RT-qPCR SuperMix | 4x1ml  |
| Referência Passiva              | 160µl  |
| Água                            | 4x1ml  |

## Reação de qPCR recomendada (baseado em uma reação de 20µl)

| Componente                      | Volume    | Concentração   |
|---------------------------------|-----------|----------------|
| Amostra de RNA                  | 1pg-100ng | Como requerido |
| Primer Forward (10µM)           | 0,4µl     | 0,2µM          |
| Primer Reserso (10µM)           | 0,4µl     | 0,2µM          |
| One-Step Green RT-qPCR SuperMix | 10µl      | 1X             |
| One-Step RT/RI SuperMix         | 0,4µl     | -              |
| Referência Passiva (opicional)  | 0,4µl     | 1X             |
| Água                            | Variável  | -              |
| Volume Total                    | 20µl      | -              |

| qPCR (3 Etapas) |           |              |
|-----------------|-----------|--------------|
| 50°C            | 5 minutos |              |
| 94°C            | 30 seg.   |              |
| 94°C            | 5 seg.    |              |
| 50-60°C         | 15 seg.   | 40-45 ciclos |
| 72°C            | 10 seg.   |              |

Estágio de Dissociação

| qPCR (2 Etapas) |         |              |
|-----------------|---------|--------------|
| 50°C            | 5 min   |              |
| 94°C            | 30 seg. |              |
| 94°C            | 5 seg.  |              |
| 60°C            | 30 seg. | 40-45 ciclos |

Estágio de Dissociação

Para termocicladores em tempo real da linha ABI, recomenda-se parametrizar o tempo de aquisição do sinal fluorofórico de acordo com as especificações a seguir (em ensaios de qPCR em três etapas, a leitura da fluorescência pode ser configurada na fase de anelamento ou de extensão):

- ABI Prism 7700 / 7900: definir o tempo de leitura para 30 segundos.
- ABI Prism 7000 / 7300: definir o tempo de leitura para 31 segundos.
- ABI Prism 7500: definir o tempo de leitura para 34 segundos.
- ABI ViiA 7: definir o tempo de leitura para, no mínimo, 19 segundos.

### Parâmetros do Ciclagem:

- Protocolos de qPCR em duas etapas (*two-step*) são indicados para ensaios que demandam maior especificidade de amplificação.
- Protocolos de qPCR em três etapas (*three-step*) são mais adequados para otimizar a eficiência de amplificação.

## Compatibilidade de Termocicladores com o Corante de Referência Passiva (*Passive Reference Dye*)

### Passive Reference Dye I (ROX Elevado / High ROX)

- ABI Prism 7000 / 7300 / 7700 / 7900
- ABI StepOne / StepOnePlus
- ABI 7900HT / 7900HT Fast

### Passive Reference Dye II (ROX Baixo / Low ROX)

- ABI Prism 7500 / 7500 Fast
- ABI QuantStudio Dx / 3 / 5
- ABI QuantStudio 6 / 7 / 12K Flex
- ABI ViiA 7
- Stratagene Mx3000P / Mx3005P / Mx4000

### Sem Corante de Referência Passiva (*No ROX*)

- Roche: LightCycler 480, LightCycler 96
- Bio-Rad: iCycler iQ, iCycler iQ5, CFX96, C1000 Thermal Cycler
- Qiagen / Corbett: Rotor-Gene 3000, Rotor-Gene 6000, Rotor-Gene G, Rotor-Gene Q
- Outros: MJ Research Chromo4 / Opticon 2, Takara TP-800, Thermo Scientific PikoReal 96, Eppendorf Mastercycler ep realplex

**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
- Rev 0.1 (julho/2026)