miRNA Two-Step qRT-PCR SuperMix

Por favor, leia o manual cuidadosamente antes de usar

Cat. No. XP-210

Armazenamento: -20ºC

Descrição:

O miRNA Two-Step qRT-PCR SuperMix reúne os componentes necessários para a detecção e quantificação de microRNAs (miRNAs) por transcrição reversa seguida de PCR quantitativa em tempo real (RT-qPCR), a partir de RNA total, pequenas moléculas de RNA ou outras amostras contendo miRNAs.

O miRNA Two-Step qRT-PCR SuperMix, composto por poli(A) polimerase e transcriptase reversa, atua em conjunto com o 2X TS miRNA Reaction Mix para promover a adição de caudas poli(A) aos miRNAs e a síntese da primeira fita de DNA complementar (cDNA).

Principais características:

• Transcrição reversa eficiente: proporção otimizada entre poli(A) polimerase e transcriptase reversa, associada a um tampão de reação formulado para favorecer a conversão de miRNAs em cDNA.

• Poliadenilação e transcrição reversa integradas: adição da cauda poli(A) e síntese da primeira fita de cDNA realizadas em uma única etapa, no mesmo tubo.

• Desempenho na quantificação: Universal Green qPCR SuperMix proporciona elevada eficiência de amplificação, especificidade e sensibilidade, contribuindo para a obtenção de resultados quantitativos precisos.

• Compatibilidade instrumental: corantes de referência passiva compatíveis com diferentes equipamentos de PCR em tempo real permitem a normalização dos sinais de fluorescência entre as reações.

Conteúdo do kit:

Componente	Volumes
Mix da Enzima miRNA RT	20µl
Mix da Reação miRNA	200µl
Universal miRNA qPCR Primer	200µl
Universal Green qPCR SuperMix	5x1ml
Referência Passiva (50X)	200µl
Agua	1ml

Adição da cauda poli(A) e síntese da primeira fita de cDNA.

1. Componentes da Reação

Componente	Volumes
RNA/ miRNA Total*	X µl
Mix da Enzima miRNA RT	1µl
Mix da Reação miRNA	10µl
Agua	q.s.p. 20 µl

*RNA total: 5 pg. Como os miRNAs não podem ser quantificados especificamente por espectrofotometria, recomenda-se utilizar de 1 a 9 µL de amostra em uma reação com volume final de 20 µL.

2. Homogeneize suavemente a mistura reacional e incube a 37 °C por 1 hora.
3. Incube a 85 °C por 5 segundos para inativar a mistura enzimática de transcrição reversa (Mix da Enzima miRNA RT).

Condições recomendadas para qPCR (exemplo para uma reação com volume final de 20 µL).

Componente	Volume	Concentração Final
cDNA[1]	Variavel	como requerido
Forward Primer (10µM)[2]	0,4µl	0,2µM
Universal miRNA qPCR Primer (10µM)	0,4µl	0,2µM
Universal Green qPCR SuperMix	10µl	1x
Referência Passiva (50X) - opcional	0,4µl	1x
Agua	Variável	-
	20µl	

1. Recomenda-se diluir o cDNA sintetizado de 5 a 10 vezes antes de sua utilização na reação de qPCR.
2. O primer forward (senso) deve ser específico para o miRNA de interesse e projetado pelo usuário com base na sequência do miRNA-alvo.

qPCR (método de três etapas)		
94°C	30 segundos	
94°C	5 segundos	
50-60°C	15 segundos*	40-45 ciclos
72°C	10 segundos*	
Estágio de Dissociação		

qPCR (método em duas etapas)		
94°C	30 segundos	
94°C	5 segundos	40-45 ciclos
60°C	30 segundos*	
Estágio de Dissociação		

Os sinais de fluorescência podem ser adquiridos durante a etapa de anelamento ou de extensão. Para os equipamentos de qPCR da ABI, recomendam-se os seguintes tempos de aquisição:

*ABI Prism® 7700/7900: 30 segundos.

*ABI Prism® 7000/7300: 31 segundos.

*ABI Prism® 7500: 34 segundos.

*ABI ViiA® 7: no mínimo 19 segundos.

A qPCR em duas etapas é mais indicada para ensaios que requerem maior especificidade.

A qPCR em três etapas é mais indicada para ensaios de avaliação da eficiência de amplificação.

Corante de referência passiva I (50×).

Equipamentos compatíveis: ABI Prism 7000/7300/7700/7900, ABI StepOne, ABI StepOnePlus, ABI 7900HT e ABI 7900HT Fast.

Corante de referência passiva II (50×).

Equipamentos compatíveis: ABI Prism 7500, ABI Prism 7500 Fast, ABI QuantStudio Dx/3/5, ABI QuantStudio 6/7/12K Flex, ABI ViiA 7 e Stratagene Mx3000P/Mx3005P/Mx4000.

Sem adição de corante de referência passiva.

Equipamentos: Roche LightCycler 480, Roche LightCycler 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 e Mastercycler ep realplex.

Apenas para uso em pesquisa, não para diagnóstico clínico.

Contatos:

- **Website:** www.genexplore.com.br
- **E-mail:** 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 (outurbro/2026)