

1- Descrição

O **kit qPCR TaqMan pht** foi especialmente desenvolvido para funcionar com primers e sondas de um alvo de DNA. A sonda, também chamada de *probe*, é um primer com um marcador fluorescente (fluoróforo) e um *quencher*. O *quencher*, por sua vez, absorve a fluorescência do fluoróforo. A detecção do alvo depende da atividade exonucleásica 5'–3' da Taq DNA polimerase, que cliva a sonda, separando o fluoróforo do *quencher* e gerando a liberação e quantificação da fluorescência emitida pelo fluoróforo.

2- Apresentação

Composição	Código
Master Mix qPCR TaqMan (2X)	R15
Água Ultrapura	S3

3- Condições de armazenamento e transporte

- O Kit **qPCR TaqMan** pode ser transportado refrigerado em gelo gel ou em temperaturas inferiores. Manter ao abrigo da luz e umidade.

- A temperatura de armazenamento deve ser de -20 °C ou inferior.

4- Medidas de segurança

Para informações sobre biossegurança e orientações em casos de acidentes com o produto, consulte a Ficha de Dados de Segurança (FDS), disponível por meio do Serviço de Atendimento ao Consumidor (SAC) da Phoneutria Biotecnologia e Serviços. O contato pode ser feito pelo e-mail **pht@phoneutria.com.br** ou pelos telefones **(31) 99585-3050** e **(31) 3427-6413**.

5- Protocolo – qPCR TaqMan

1. Prepare uma reação com volume final de 20 µL adicionando os seguintes reagentes:

Reagente	Volume
Master Mix qPCR TaqMan (2X)	10 µL
Primer Forward (Concentração de 6 a 10 µM)	1 µL
Primer Reverse (Concentração de 6 a 10 µM)	1 µL
Sonda (Concentração de 4 a 6 µM)	1 µL
DNA purificado	1 a 7 µL
Água ultrapura	Completar o volume para 20 µL

OBS: Para aparelhos que necessitam do uso de ROX solicitar o Kit **qPCR TaqMan + ROX (Cód. K12.2)**.

2. A reação pode ser incubada com os tempos e temperaturas exemplificados na tabela abaixo. Utilize o programa de ciclagem com as temperaturas e tempos de desnaturação, anelamento e extensão bem como o número de ciclos padronizados para sua reação.

5.1- Exemplos de ciclagens para qPCR TaqMan

Temperatura	Tempo	Observação
95 °C	5 min	O primeiro passo de desnaturação
95 °C	15 s	Segundo passo de desnaturação.
60-63 °C	60 s	Repetir 40-45x Anelamento dos primers e sonda no DNA alvo e Extensão com ação da Taq DNA pol. A fluorescência deve ser coletada nesse passo.

Ou

Temperatura	Tempo	Observação
95 °C	5 min	O primeiro passo de desnaturação
95 °C	15-30 s	Segundo passo de desnaturação.
50-60 °C	15-30 s	Repetir 40-45x Anelamento dos primers e sonda no DNA alvo.
72 °C	20-45 s	Extensão com ação da Taq DNA pol. A fluorescência deve ser coletada nesse passo.

Dúvidas? Ligue ou mande uma mensagem para o nosso Setor Técnico.

E-mail: pht@phoneutria.com.br



(31) 99585-3050

Visite o nosso site:

