



PEPAB

Plataforma de Expressão, Purificação
e Análise de Biomoléculas

UTILIZAÇÃO DOS EQUIPAMENTOS DE PCR EM TEMPO REAL QUANTSTUDIO 3 (APPLIED BIOSYSTEMS)

Atualizado em 16 de abril de 2021

1. Sobre a localização dos aparelhos:

A Plataforma de Expressão, Purificação e Análise de Biomoléculas (PEPAB) do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (IBCCF) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) conta com dois sistemas de PCR em tempo real QuantStudio 3 (Applied Biosystems).

Os equipamentos estão localizados na sala G0-032 (subsolo do bloco G), no Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFRJ, situado na Ilha do Fundão.

2. Sobre o aparelho QuantStudio 3:

O QuantStudio 3 é um termociclador em tempo real desenvolvido pela Applied Biosystems. Embora possam ser programados diretamente por meio de sua tela sensível ao toque, os aparelhos da PEPAB estão ligados a um computador para facilitar o desenho dos experimentos e a aquisição dos resultados.

Os dois aparelhos QuantStudio 3 localizados na PEPAB apresentam as mesmas especificações, que podem ser vistas na tabela a seguir:

Informações do equipamento - QuantStudio3	
Bloco	96 poços
Cores	04 cores (azul, verde, amarelo, laranja)
Volume do bloco	0.1 mL (para placas de 0.1 mL)
Volume de reação	10 – 30 µl
Rampa de ciclagem	Standard ou Fast
Zonas veriflex (gradiente)	<div data-bbox="587 1653 821 1886"></div> <p>O sistema QuantStudio 3 possui três zonas programáveis que permitem a execução de diferentes programações em uma mesma corrida. Ao contrário dos equipamentos que possuem tecnologia gradiente padrão (que fornecem uma curva de temperatura sigmoidal através as colunas), neste equipamento é possível ter temperaturas precisas dentro de cada zona.</p>

3. Sobre a calibração dos aparelhos QuantStudio 3:

De acordo com a fabricante, o espectro de leitura e os fluoróforos recomendados para uso no QuantStudio 3 estão relacionados na tabela a seguir.

Canal	Cor	Comprimento de leitura do filtro (nm)		Fluoróforos pré-calibrados no equipamento	Exemplos de outros fluoróforos (necessitam de aquisição de placa calibradora)
		Excitação	Emissão		
x1-m1	Azul	470 ± 15	520 ± 15	FAM TM e SYBR [®] Green	SYT09
x2-m2	Verde	520 ± 10	558 ± 10	VIC [®]	HEX TM , TET TM e JOE TM
x3-m3	Amarelo	550 ± 10	587 ± 10	ABY [®] , NED TM e TAMRA TM	Cy [®] 3
x4-m4	Laranja	580 ± 10	623 ± 14	JUN [®] e ROX TM	Texas Red [®]

Em novembro de 2020, os dois aparelhos situados na PEPAB foram calibrados com o kit de calibração espectral da Applied Biosystems (número de referência no catálogo da empresa A26342), composto por 3 placas de calibração, totalizando 10 corantes, a saber:

- Placa 1: FAM, VIC, ROX e SYBR dyes;
- Placa 2: ABY, JUN e MUSTANG PURPLE;
- Placa 3: TAMRA, NED e Cy5.

4. Sobre o agendamento:

Para agendar o uso de qualquer um dos aparelhos, o usuário deve inicialmente solicitar o cadastro enviando mensagem eletrônica para pepab@biof.ufrj.br. O agendamento para utilização dos equipamentos será feito online, através do booked (<https://agendacmdfa.biof.ufrj.br>). Cada usuário é responsável pelo agendamento de seus experimentos.

Os aparelhos QuantStudio 3 situados na PEPAB são multiusuários e devem atender o maior número de usuários possível. Assim, não será permitida a utilização da máquina por um único usuário por grandes períodos de tempo consecutivos em épocas de alta demanda de utilização. Casos especiais deverão ser avaliados com a equipe gestora.

Caso o usuário desista de utilizar o equipamento, solicitamos que o cancelamento seja feito com pelo menos duas horas de antecedência para que outros usuários possam utilizar a máquina. A não observação dessa regra resultará em cobrança pelo período agendado.

5. Sobre o uso dos aparelhos:

Após o cadastramento, o usuário terá acesso à ferramenta de agendamento online booked (<https://agendacmdfa.biof.ufrj.br>). Todo uso de qualquer um dos aparelhos QuantStudio deve ser registrado previamente no booked.

O treinamento para uso do equipamento ou o auxílio para o desenho experimental de análises de PCR em tempo real deve ser acordado previamente com a Carolina Goulart, técnica da PEPAB, por meio do e-mail pepab@biof.ufrj.br.

As especificações dos insumos recomendados para uso nos aparelhos estão detalhadas a seguir.

Consumíveis plásticos recomendados pela fabricante

	Consumível	Cont.	Nº cat.	Link
Tubos e tampas de tubos	MicroAmp™ Optical 8-Cap Strips	300 strips	4323032	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4323032?SID=srch-hj-4323032
	MicroAmp™ Fast 8-Tube Strip, 0.1 mL	125 strips	4358293	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4358293?SID=srch-hj-4358293
	MicroAmp™ Fast Reaction Tube with Cap, 0.1 mL	1000 tubos	4358297	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4358297?SID=srch-hj-4358297
Placa	MicroAmp™ Fast Optical 96-Well Reaction Plate, 0.1 mL	10 placas	4346907	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4346907?SID=srch-hj-4346907
Adesivos	MicroAmp™ Optical Adhesive Film Kit	1 kit	4313663	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4313663?SID=srch-hj-4313663
	MicroAmp™ Optical Adhesive Film	100 films 25 films	4311971 4360954	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4360954?SID=srch-srp-4360954

*Atenção às especificações da placa e tubos recomendados (**0.1 mL**). Placas e tubos de 0.2 mL são **incompatíveis**. Os equipamentos não possuem o leitor para barcode..*

Reagentes recomendados pela fabricante

	Mix	Cont.	Nº catálogo	Link
SYBR	PowerUp™ SYBR® Green Master Mix	1mL	A25741	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/A25741?SID=srch-hj-A25741
		5mL	A25742	
	Power SYBR® Green RNA-to-CT 1-Step Kit	2mL 10mL	4391178 4389986	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4391178?SID=srch-hj-4391178
TaqMan	TaqMan® Fast Advanced Master Mix	1mL	4444556	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4444556?SID=srch-hj-4444556
		5mL	4444557	
	TaqMan® Multiplex Master Mix	1mL	4461881	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4461881?SID=srch-hj-4461881
		5mL	4461882	
	TaqPath™ qPCR Master Mix, CG	5mL	A15297	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/A15297?SID=srch-hj-A15297
	TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix	1mL	4444432	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4444432?SID=srch-hj-4444432
		5mL	4444434	
TaqPath™ 1-Step RT-qPCR Master Mix, CG	5mL	A15299	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/A15299?SID=srch-hj-A15299	
	10mL	A15300		
TaqPath 1-Step Multiplex Master Mix	0,5mL	A28525	https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/A28525?SID=srch-hj-A28525	
	5mL	A28526		

Reagentes validados por usuários

	Mix	Cont.	Nº catálogo	Link
ABM	BrightGreen 2X qPCR MasterMix-ROX	500 reactions (20 µl)	MasterMix-R 4 x 1.25 ml	https://www.abmgood.com/qPCR-Protocol-Analysis-MasterMix-R.html
EvaGreen	5x HOT FIREPol® EvaGreen® qPCR Mix Plus (ROX)	1 mL	08-24-00001	https://www.sbd.ee/EN/products/realtime_pcr_mixes/evagreen_qpcr_mix_plus_rox
		8 mL	08-24-00008	
		20 mL	08-24-00020	

6. Sobre a extração dos resultados:

Os resultados ficarão salvos no computador acoplado aos equipamentos e deverão ser retirados utilizando *pendrive*, que deve ser formatado a cada nova utilização. Recomendamos fortemente que os dados sejam salvos imediatamente após cada corrida, uma vez que os arquivos serão periodicamente apagados.

A PEPAB não se responsabiliza pelos dados mantidos no computador da unidade.

7. Sobre o custo para utilização dos aparelhos:

De forma a manter os custos de operação do equipamento (calibração, manutenções, visitas técnicas para eventual conserto e manutenção do ar condicionado da sala, entre outros de natureza similar) o custo de uma hora de utilização será de R\$ 10,00 (tempo mínimo de utilização de 30 minutos).

Esse valor poderá ser pago através de depósito do valor devido diretamente na conta da Unidade, que é gerenciada por uma fundação de apoio a pesquisa. Após o pagamento, será emitida uma nota fiscal de serviços eletrônica. Informações detalhadas acerca do pagamento por essa via serão fornecidos pela empresa de apoio, na época da cobrança.

8. Sobre dúvidas e demandas específicas:

Caso ainda restem dúvidas ou outras questões particulares, a equipe técnica e gestora da PEPAB está à disposição para esclarecimentos por meio dos seguintes canais de atendimento:

e-mail: pepab@biof.ufrj.br

WhatsApp: (21)99981-0217 (este número não recebe ligações)

A equipe técnica e gestora da PEPAB é composta por:

Docentes:

Norton Heise (Coordenador)

Ana Carolina Oliveira

Eleonora Kurtenbach

Gilberto Weissmüller

Rodrigo Soares Fortunato

Ronaldo da Silva Mohana Borges

Técnica:

Carolina Lage Goulart (Biomédica)