

Materiais

- Placa de Real time;
- Folha de planejamento da placa;



Procedimentos

- 1- Centrifugue a placa a 4°C por 3 minutos a 3000 G;
- 2- Ligar o computador ele não tem senha.
- 3- Centrifugar a placa por 3 minutos a 3000 G a 4° C;
- 4- Ligar a máquina de PCR, seta amarela, empurrar o suporte, seta preta, colocar a placa e empurrar. Cuidado ao colocar a placa, está indicada a posição do poço **A1** suporte para não haver erro;
- 5- Clicar 2x em **7500 software**;
- 6- Clicar em **File, New**;
- 7- Abrirá uma janela onde você deve conferir se os itens estão de acordo com a seguinte tabela;

item	Formatação utilizada
Assay	Absolute quantification (<i>standard curve</i>)
Container	96-well clear
Template	Blank Document
Run mode	Standard 7500
Operator	Administrador
Comments	SDS V1.3.1
Plate name	Plate 1

- 8- Se tudo estiver certo, clicar em **Next**;
- 9- Em **Detector name** selecione os primers que você deseja analisar, depois clique em **Add** e depois em **Next**;
- 10- A próxima janela mostrará duas abelas. A de cima com os primers que você selecionou e a de baixo com o desenho da sua placa. Selecione os poços respectivos para cada primer na tabela de baixo e

clique no quadrado vazio ao lado do primer na tabela de cima,

- 11- Clique em **Finish**;
- 12- Clique em **Instruments** na aba superior da janela e ajuste o volume para o volume aque você colocou na placa;
- 13- Clique em **Start**;

Obs1: Normalmente a corrida dura 1 hora e meia. Marque a máquina com antecedência; Leve SEMPRE o desenho da placa com você, para que na hora de preencher o programa, evitar erros.

Obs2: Os dados serão enviados por email após a corrida;

Obs3: Você precisa de um computador que abra os arquivos **.sds**. para analisar os dados;