



Ciências  
ULisboa

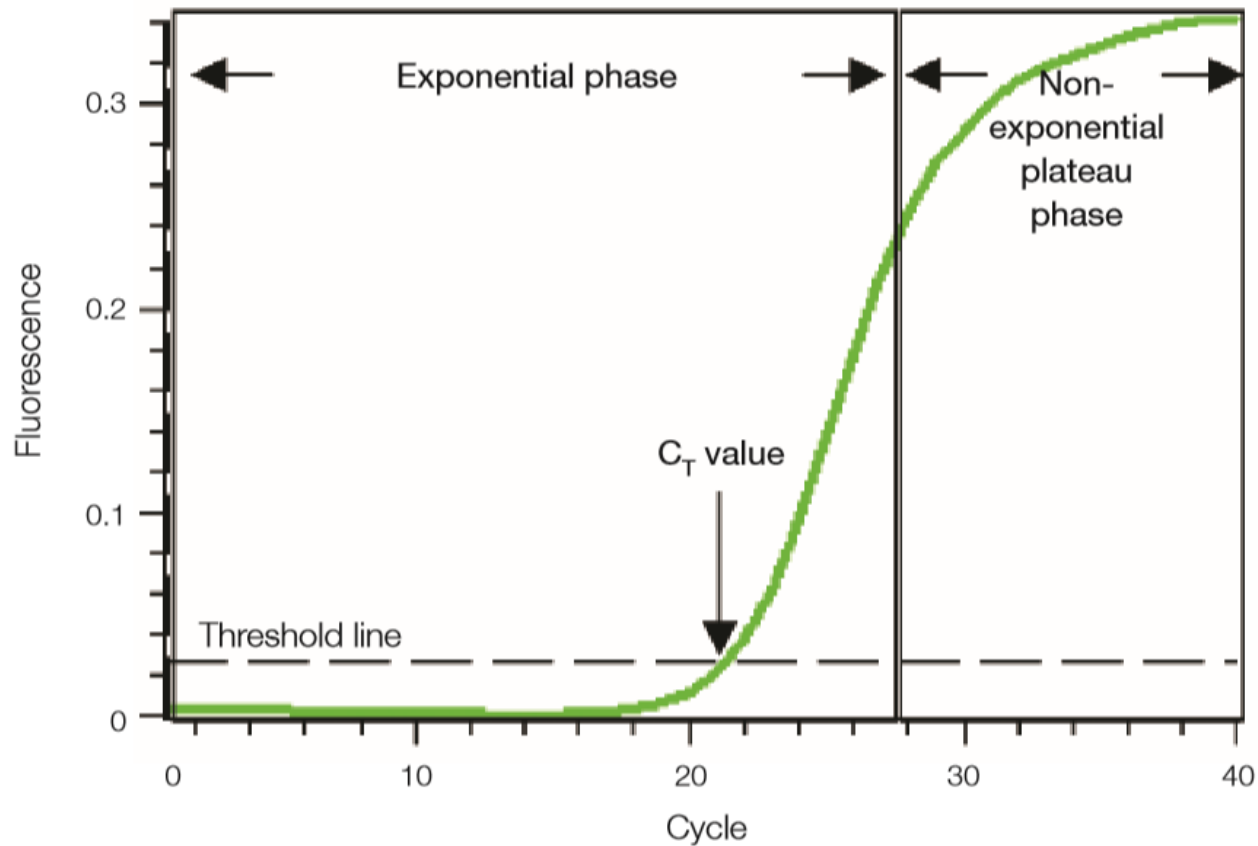
# PCR EM TEMPO REAL

VARIANTES DO PCR

Engenharia Genética  
Professora Rita Zilhão

# DO PCR AO PCR EM TEMPO REAL

**PCR em tempo real-** Permite **controlar a amplificação** do DNA em cada ciclo, através da **monotorização da fluorescência**, num determinado momento.



↑ Fluorescência    ↑ Quantidade de DNA

**CT (threshold cycle)** – fluorescência dos produtos de PCR começa a ser detetada.

↓ Valor de CT    ↑ Maior quantidade de DNA a ser amplificada

# VANTAGENS E DESVANTAGENS

## Vantagens

Identificação dos fragmentos amplificados durante o processo

Análise mais rápida e simplificada

Medição da quantidade de produto durante a fase exponencial

Não requer uma análise após a sua realização de modo a identificar o produto desejado

Diminuição da probabilidade de contaminação

## Desvantagens

- × Alto custo do equipamento
- × Elevadas exigências técnicas e científicas necessárias para o correto manuseamento e manutenção do mesmo



Equipamento utilizado em qPCR

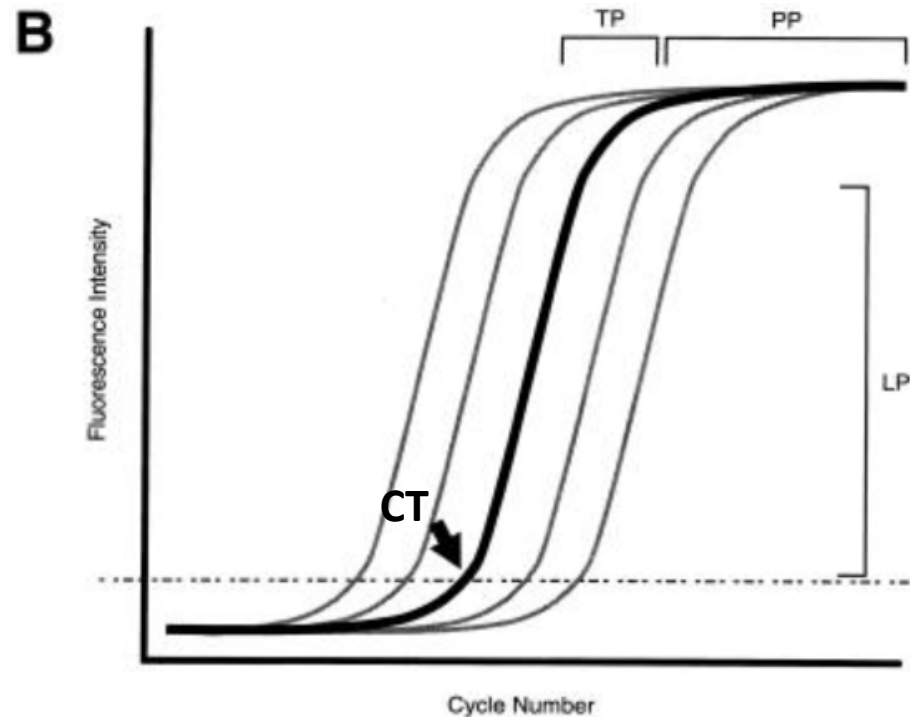
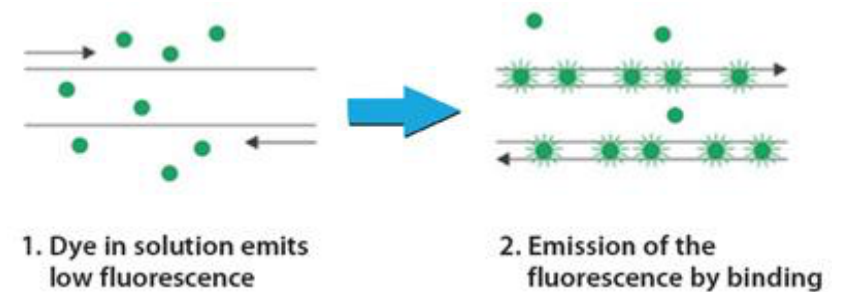
# EXEMPLO

1292–1305 *Nucleic Acids Research*, 2002, Vol. 30, No. 6

© 2002 Oxford University Press

## SURVEY AND SUMMARY Real-time PCR in virology

Ian M. Mackay<sup>1,2,3,\*</sup>, Katherine E. Arden<sup>4</sup> and Andreas Nitsche<sup>5</sup>



Utilização de primers específicos de vírus.

- A cinzento: Valores de CT correspondentes a amostras com cargas virais pré-definidas.
- A preto: Valor de CT para amostra com carga viral desconhecida

Os valores de CT irão ser usados para construir uma curva padrão, a partir da qual é possível determinar a carga viral desconhecida nas células infetadas pelo vírus.



LP – log-linear phase    TP – transition phase    PP – plateau phase