

描述: 本制品是以 RNA 为模板采用 TaqMan 探针法进行 Real-Time PCR 的专用试剂, 适合于 FAM/HEX/TET/JOE 等双标记探针 (本品也适用于 Molecular Beacon 探针), 其中冻干的 TaqMan qPCR Reagent 将热启动 Fast Taq DNA 聚合酶、耐热反转录酶、dNTP/dUTP、热敏 UNG 等做成冻干品试剂, 制品性能稳定, 可长期保存。当加入 2×TaqMan Buffer 溶解后, 试剂变为常规 One-Step TaqMan PCR 单组分预混试剂, 进行实验时, PCR 反应液的配制十分方便简单, 只需加入引物、探针、RNA 模板、水即可。

制品中的耐热反转录酶具有卓越的热稳定性, 在 55℃ 条件下仍然保留 90% 以上的聚合活性。制品中的 Fast Taq DNA 聚合酶采用专有的热启动技术确保 55℃ 以下没有任何活性, 因此可在室温建立反应体系。Fast Taq DNA 聚合酶具有卓越的扩增速度, 因此满足快速 PCR 程序, 通常在 30min 以内可以完成扩增反应。同时该聚合酶具有耐受杂质的能力, 同样适用于粗制核酸样本的扩增反应。

由于制品中不含 dTTP, 因此所有扩增产物包含 dU 碱基, 当在下一实验时, 热敏 UNG 会消化污染产物, 从而避免假阳性扩增, 制品中 UNG 酶具有消化 10 万 Copy 污染物以上的能力。

包装

规格	200 次
Lyophilized Fast RNA TaqMan PCR Reagent (UNG)	2 瓶
2×TaqMan PCR Buffer7	1 ml×2

储存:

(1) Lyophilized Fast RNA TaqMan PCR Reagent(UNG) 为干粉形式, 每瓶可用于 100 次的扩增反应。

(2) Lyophilized Fast RNA TaqMan PCR Reagent(UNG) 为干粉形式, 可置于室温保存 12 个月, -20℃ 长期保存, 并可采用室温运输。

(3) 冻干制品经 2×TaqMan PCR Buffer7 溶解后, 可于 -20℃ 长期保存。

操作方法

1. 溶解冻干制品

每瓶中加入 1 ml TaqMan PCR Buffer7 溶解冻干品, 溶解后的制品为 2 倍浓度的 TaqMan PCR Mix 试剂 (2×One-Step TaqMan PCR Mix)。溶解后的剩余试剂可置于 -20℃ 保存, 下次实验融化后直接使用即可。

2. 配制反应体系

按照如下组分配制 20 μl PCR 反应体系:

	终浓度
2×One-Step TaqMan PCR Mix (溶解后)	10 μl 1×
PCR Forward Primer (10 μM)	0.4 μl 0.2 μM
PCR Reverse Primer (10 μM)	0.4 μl 0.2 μM
TaqMan Probe (10 μM)	0.4 μl 0.2 μM
RNA 模板(10pg~500ng)	0.5~2 μl
加 ddH ₂ O 至总体积	20 μl

3. 进行 Real-Time PCR 反应, 程序如下:

Stage 1:	37℃	2min(消化污染物)
Stage 2:	55℃	10min(反转录获得 cDNA)
Stage 3:	95℃	30s(热启动反应)
Stage 4:	95℃	5s
	60℃	20s 40 cycles