

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/ROX 等双标记探针 (本品也适用于 Molecular Beacon 探针), 其中冻干的 TaqMan PCR Reagent 将热启动 Fast Taq DNA 聚合酶、耐热反转录酶、dNTP 等做成冻干品试剂, 制品性能稳定, 可长期保存。当加入 2xTaqMan Buffer 溶解后, 试剂变为常规 One-Step RNA 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。该制品不含有 ROX 校正染料, 适用于适合于各种荧光标记探针, 并且适用于各种定量 PCR 机型。

制品中的耐热反转录酶具有卓越的热稳定性, 在 55°C 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°C 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。

包装

规格	200 次
Lyophilized Fast RNA TaqMan PCR Reagent	2 瓶
2xTaqMan PCR Buffer5	1 mlx2

储存:

- (1) Lyophilized Fast RNA TaqMan PCR Reagent 为干粉形态, 每瓶可用于 100 次的扩增反应。
- (2) Lyophilized Fast RNA TaqMan PCR Reagent 为干粉形态, 可置于室温保存 12 个月, -20°C 长期保存, 并可采用室温运输。
- (3) 冻干制品经 2xTaqMan PCR Buffer5 溶解后, 可于 -20°C 长期保存。

操作方法

1. 溶解冻干制品

每瓶中加入 1 ml TaqMan PCR Buffer5 溶解冻干制品, 溶解后的制品为 2 倍浓度的 TaqMan PCR Mix 试剂 (2xOne-Step TaqMan PCR Mix)。溶解后的剩余试剂可置于 -20°C 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 μ l PCR 反应体系:

	终浓度	
2xOne-Step TaqMan PCR Mix (溶解后)	10 μ l	1x
PCR Forward Primer (10 μ M)	0.4 μ l	0.2 μ M
PCR Reverse Primer (10 μ M)	0.4 μ l	0.2 μ M
TaqMan Probe (10 μ M)	0.4 μ l	0.2 μ M
RNA 模板 (10pg~500ng)	0.5~2 μ l	
加 ddH ₂ O 至总体积	20 μ l	

注意: 通常使用 0.4 μ l 的扩增引物可获得理想的扩增结果, 必要时可在 0.2~0.8 μ l 之间进行调整。在双探针检测时通常探针用量减半, 扩增引物浓度保持不变。

3. 进行 Real-Time PCR 反应, 程序如下:

Stage 1:	55°C	10min (反转录反应)
Stage 2:	95°C	30s (热启动反应)
Stage 3:	95°C	5s
	60°C	20s 40 cycles