



TL One Step RT qPCR Mixture

Cat. No. CW3358S (1 mL)
CW3358M (5 mL)
CW3358L (25 mL)

产品简介

本产品是采用探针法 (TaqMan, Molecular Beacon等) 以RNA为模板进行一步法Real-Time RT-qPCR的试剂盒。本品可适用于数字PCR检测, 用于绝对定量、突变检测、拷贝数分析、基因表达分析、环境监测、食品检测等场景。使用本产品进行Real Time RT-qPCR反应时, 逆转录和定量PCR在同一反应体系中进行, 反应过程中无需添加试剂, 无需打开管盖, 避免了污染的同时提高了实验效率。

保存条件: -30 ~ -15°C保存, 避免反复冻融。

产品内容

| Component | CW3358S 1 mL | CW3358M 5 mL | CW3358L 25 mL |
|-------------------------------|-----------------|-----------------|------------------|
| 2×TL One Step RT qPCR Mixture | 1 mL | 5 mL | 25 mL |
| RNase-Free Water | 1 mL | 5 mL | 25 mL |

注意事项

1. 本产品以RNA为模板进行一步法RT-PCR实验, 在操作过程中应避免RNase污染, 建议在专门的区域进行RNA操作, 使用专门的仪器和耗材, 操作人员戴口罩和一次性手套并经常更换手套, 实验相关耗材应用0.1%DEPC (焦碳酸二乙酯) 水溶液在37°C处理12小时, 并高压灭菌30分钟后使用。
2. 本品避免反复冻融。

使用方法

以下举例为常规的反应体系和反应条件，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小的不同进行相应的改进和优化。

1. 将RNA模板、引物探针、2×TL One Step RT qPCR Mixture融化并置于冰上备用
2. PCR反应体系:

| 试剂 | 25 μL体系 | |
|--------------------------------|-------------|-----|
| 2×TL One Step RT qPCR Mixture | 12.5 μL | |
| Primer/Probe mix ¹⁾ | X μL | 终浓度 |
| RNA Template ²⁾ | 5 μL | 1× |
| RNase-Free Water | Up to 25 μL | |

注意:

- 1) 通常引物浓度以0.2 μM可以得到较好结果，可以在0.1-1.0 μM作为设定范围的参考。使用的探针浓度，与使用的荧光定量PCR仪、探针种类、荧光标记物质种类有关，实际使用时请参照仪器说明书，或各荧光探针的具体使用要求进行浓度的调节。
 - 2) 通常RNA模板的量以10 pg-100 ng为参照，因不同物种的模板中含有的目的基因拷贝数不同，可对模板进行梯度稀释，以确定最佳的模板使用量。
3. 混匀，短暂离心，将溶液收集到管底。
 4. RT-PCR反应条件:

| 步骤 | 温度 | 时间 | 循环数 |
|-----------|------|--------|------|
| 逆转录 | 55°C | 15 min | 1 |
| 预变性 | 95°C | 1 min | 1 |
| 变性 | 95°C | 5-10 s | } 45 |
| 退火延伸，收集荧光 | 58°C | 30 s | |

注意:

退火延伸温度可根据引物探针自行调整。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途