



TL One Step RT qPCR Mixture

目录号：CW3358S (1 mL)
CW3358M (5 mL)
CW3358L (25 mL)

保存条件：-30~-15℃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

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。

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

注意：

1) 通常引物浓度以0.2 μ M可以得到较好结果，可以在0.1-1.0 μ M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