

Superbrilliant[®] 一步法 rTth qRT-PCR 预混液

Superbrilliant[®] rTth qRT-PCR Master Mix

Cat.No.:ZS-M13010

组分

货号	名称	ZS-M13010S (1ml)	ZS-M13010M (5ml)	ZS-M13010L (25ml)
103128	2×rTth Master Mix	1ml	5ml	25ml
	说明书	1 份	1 份	1 份

储存：长期保存，请避光置于-20℃可保存 3 年。

简介: rTth qRT-PCR 预混液中使用热启动 rTth DNA/RNA 聚合酶, 该聚合酶经电子重构架技术, 改变了 Tth DNA/RNA 聚合酶的活性配体中心, 使其在 Mg^{2+} 条件下仍然具有极强的逆转录活性, 不再受限于反应 Buffer 系统, rTth DNA/RNA Polymerase 在 Mg^{2+} 条件下对于 DNA 模板和 RNA 模板扩增能力几乎无偏差。2×rTth Master Mix 为进行 RNA 探针 RT-PCR 的专用预混试剂, 可高灵敏的检测 RNA 分子。可用于扩增粗样品, 性能卓越。无需抽提、纯化核酸即可进行扩增检测, 尤其适用拭子样本。

热启动 rTth DNA/RNA 聚合酶的特性:

- (1) 依赖于 DNA 模板的聚合酶活性;
- (2) 极强的依赖于 RNA 模板的逆转录活性;
- (3) 5' -3' 外切酶活性, 用于探针切割;
- (4) 金属配体离子为 Mg^{2+} , 通常使用浓度 2~3.5mM;
- (5) 相比于 Tth DNA 聚合酶, rTth 的耐热性能有所下降, 92°C 条件下的半衰期为 30min;
- (6) 热启动 rTth 在 50°C 条件下 100% 无活性, 92°C 加热 5min 后恢复活性;
- (7) 以 RNA 为模板进行 RT-PCR 扩增的最大长度为 280bp, 扩增效率最高的长度为 70-150bp。

操作方法:

1. 按照如下组分配制 20 μ l RT-qPCR 反应液:

2 $\times$ rTth Master Mix	10 μ l
上游引物 (10 μ M)	0.4 μ l
下游引物 (10 μ M)	0.4 μ l
荧光探针 (10 μ M)	0.2 μ l
RNA	X μ l
ddH ₂ O	Up to 20 μ l

*注 (1) 全部组分添加之后, 请充分混匀反应液, 再进行反应。

(2) 引物和探针的使用浓度可在 0.1-0.8 μ l 直接调整。

2. Direct One-Step qRT-PCR 程序

92°C	5min	热启动
60°C	5min	逆转录
92°C	10s	} 35-45 cycles
60°C	30s (收集信号)	

*注 rTth DNA/RNA Polymerase 的最佳变性温度为 92°C, 其它温度条件都会导致试剂性能下降。逆转录步骤的温度可根据实际情况在 58-72°C 调整。