

Superbrilliant[®]rTth qRT-PCR 预混液 (UDG)**Superbrilliant[®] rTth RT-qPCR Master Mix(with UDG)****Cat.No.:ZS-M13011**

组分

货号	名称	ZS-M13011S (1ml)	ZS-M13011M (5ml)	ZS-M13011L (25ml)
103129	2×rTth Master Mix (with UDG)	1ml	5ml	25ml
	说明书	1 份	1 份	1 份

储存: -20℃避光可保存 2 年。短期使用可放置 2-8℃, 保存 3 个月。如出现白色沉淀溶解后使用, 不影响反应性能。

简介: rTth RT-qPCR 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。

rTth Master Mix(with UDG)中 dTTP 大部分被 dUTP 替代, 因此扩增产物带有 dUTP 碱基, 在配合热敏 UDG (该酶在 $92^{\circ}C$ 热变性 5min 后不可逆失活, 不影响后续 PCR 反应) 消化的情况下, 可有效降低气溶胶污染现象。实验证明, 在 10^5 copies 污染物的测试条件下, Ct 值推迟 12 个以上(污染去除能力 >99.98%), 因此该预混液在一步法 qPCR 反应中具有良好的去除核酸气溶胶污染的能力。

主要特性:

- (1) 可有效使用 dUTP, 具备良好的去除核酸气溶胶污染能力;
- (2) 依赖于 DNA 模板的聚合酶活性;
- (3) 极强的依赖于 RNA 模板的逆转录活性;
- (4) $5' - 3'$ 外切酶活性, 用于探针切割;
- (5) 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 qRT-PCR 反应液:

2 $\times$ rTth Master Mix(with UDG)	10 μ l
上游引物 (10 μ M)	0.4-0.8 μ l
下游引物 (10 μ M)	0.4-0.8 μ l
荧光探针 (10 μ M)	0.2-0.4 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使用范围内直接调整。

2. Direct One-Step qRT-PCR 程序

25°C	2min	消化污染
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 (1) 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 57-70°C 调整。

(2) 消化污染步骤中的温度设置可在 25-37°C 间, 但高于 42°C 会导致热敏 UDG 消化能力急剧下降。