

# THUNDERBIRD<sup>®</sup> Probe One-step qRT-PCR Kit [QRZ-101]

保存条件： -20 °C

## 产品介绍

该产品是使用了高效逆转录酶 ReverTra Ace<sup>®</sup> 和 PCR 酶 HotStart Tth DNA Polymerase 的双酶体系一步法荧光定量 PCR 试剂盒。主要用于使用 TaqMan<sup>®</sup> 分析法的荧光定量 PCR，能够对微量 RNA 进行迅速、高灵敏度的检测，且不受目的基因序列的影响，能够在多重荧光检测中将各目的片段的扩增偏差抑制到最低。此外，通过添加 UNG 酶还可进行防污染操作。

## 产品组分

试剂名	保存条件	容量
2x Reaction Buffer <sup>*1</sup>	-20 °C	1.25 mL × 2
DNA Polymerase	-20 °C	125 μl × 1
RT Enzyme Mix <sup>*2</sup>	-20 °C	125 μl × 1
50x ROX Reference Dye	-20 °C 避光保存	100 μl × 1
RNase free Water	-20 °C	1.25 mL × 2

\*1: 反应 buffer 是含有 dATP、dCTP、dGTP、dUTP 等的 2× 浓度的反应溶液。每次使用前请在溶解后充分混匀。

\*2: RT Enzyme Mix 中，除了含有逆转录酶外，还含有 RNase Inhibitor，能够抑制 RNase 的活性。

## 推荐的反应体系

组分	20 μl 反应	50 μl 反应	终浓度
RNase free water	补至 20 μl	补至 50 μl	
2x Reaction Buffer	10 μl	25 μl	1×
DNA Polymerase	0.5 μl	1.25 μl	
RT Enzyme Mix	0.5 μl	1.25 μl	
F/R Primer (10 μM each)	1 μl	2.5 μl	0.5 μM
TaqMan <sup>®</sup> probe (10 μM)	0.4 μl	1 μl	0.2 μM
50x ROX Reference dye <sup>*1</sup>	0.4 / 0.04 μl	1 / 0.1 μl	1x / 0.1x
(Uracil-N-Glycosylase) <sup>*2</sup>	0.4 unit	1 unit	
RNA 溶液 <sup>*3</sup>	Y μl	Y μl	

\*1: 部分定量 PCR 仪 (ABI 7500 等) 需要添加 ROX reference dye 以校正分装误差和孔间误差，不同仪器最适添加量请参考电子版说明书。

\*2: 使用 Uracil-N-Glycosylase (UNG) 处理时，请使用热敏性 (heat-labile) UNG，添加量请参考各公司推荐值。

\*3: 过量添加会造成反应效率下降。Total RNA 请以终浓度 25ng/ul 以下的标准添加到反应液中。

## 推荐的反应条件

步骤	温度	时间	循环数
(UNG 反应) <sup>*1</sup>	(20~25°C)	(10 min)	1
逆转录反应	50°C	10 min	1
预变性	95°C	1 min	1
变性	95°C	15 sec	
延伸 (退火) <sup>*2</sup>	60°C	45 sec	40 ~ 45

\*1: 如果进行 UNG 酶处理请放在逆转录反应之前，处理的温度和时间请参考各公司推荐值。

\*2: 定量效果不佳时，请调整退火/延伸的温度和时间，具体优化方式请参考电子版说明书。

