

版本号: FPI1703

FineScript II One Step qRT-PCR kit

目录号: FP701

产品内容:

产品组成	FP710-02
直扩qRT-PCR反应液	2×1140 μl
直扩qRT-PCR酶混合液	120 μl
阴性对照	1000 μl

储存条件:

请将该试剂盒置于-20°C保存。

产品特点:

1. 一步完成 Real Time qRT-PCR 反应,快速、准确地对 RNA 病毒等微量 RNA 进行分析。
2. PCR 使用了,FineAmp HotStart Taq DNA Polymerase, 可以进行 HotStart PCR 反应, 再与 GENFINE 公司专利配方的 Buffer 系统相结合, 具有高扩增效率, 高扩增灵敏度, 高扩增特异性之特点。
3. qRT-PCR 酶混合液包含 FineScript II RTase、FineAmp HotStart Taq DNA Polymerase、增加剂和稳定剂。qRT-PCR 反应液包含优化的缓冲体系和 dNTP mix, 反应液配制十分简单方便, 大限度的减少了操作中的污染。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品简介：

FineScript II One Step qRT-PCR Kit 专为以 RNA 为模板的定量 PCR 检测而设计。使用基因特异性引物 (GSP)，逆转录和 qPCR 反应可在同一反应管内连续进行，操作简单，并能有效防止污染。本反应体系由于可以对扩增产物进行实时检测，大大提高了检测灵敏度，并省略了 PCR 反应后的电泳步骤，非常适合于微量 RNA 的检测。

本制品中使用了最适合于 Real Time qRT-PCR 的反转录酶 FineScript II RTase 和 FineAmp HotStart Taq DNA Polymerase，精心优化并配制成 qRT-PCR 酶混合液，保证了 Real Time One Step RT-qPCR 能稳定、高效的进行。FineScript II RTase 是一种由工程菌进行重组表达的全新高效逆转录酶，具有与 RNA 高亲和性的特点，其能通读 GC 含量高、二级结构复杂的 RNA 模板，而 FineAmp HotStart Taq DNA Polymerase 是 GENFINE Taq DNA Polymerase 和其单克隆抗体的混合制品，适用于 HotStart PCR 实验。在 PCR 反应高温加热前，Taq 单克隆抗体会与 Taq 酶结合，抑制其聚合酶活性。本产品中高亲和力抗体可以保证在常温条件下完全屏蔽 Taq 酶活性，使整个反应体系具有很高的特异性。另外，本产品中的 Taq DNA Polymerase 具有较高的模板亲和力，可以提高扩增的效率以及特异性。

试剂盒以便捷的 Master Mix 形式提供。qRT-PCR 反应液包含优化的缓冲体系和 dNTP mix，适用于 TaqMan 等荧光标记探针的高特异性检测系统。

注意事项：

1. 当同时需要进行数次 Real Time One Step qRT-PCR 反应时，应先配制各种试剂的混合液(其中包括 qRT-PCR 反应液、qRT-PCR 酶混合液、Primers、Probe 等)，然后再分装到每个反应管中。这样可使所取的试剂体积更准确，减少试剂损失，避免重复分取同一试剂。同时也可以减少实验操作或实验样品之间产生的误差。
2. 使用 qRT-PCR 反应液时，应轻轻混匀，避免起泡，并在分取时慢慢吸取。
3. 反应液的配制、分装时请一定使用新的(无污染的)枪头或带滤心枪头、Microtube 等，尽量避免污染。
4. 制品只能使用特异性反转录引物，不能使用 Random Primer 和 Oligo dT Primer 等进行反转录反应。

操作步骤：

1. qRT-PCR 扩增反应：

组成成分	单人份用量
直扩 qRT-PCR 反应液	38 μ l
直扩 qRT-PCR 酶混合液	2 μ l
直扩 qRT-PCR 引物探针	5 μ l
模板	5 μ l
总量	50 μ l

试剂全部加好后，混匀后瞬时离心，将所有试剂收集到管底。

直扩 qRT-PCR 引物探针配制（建议）：

引物探针母液	直扩 qRT-PCR 引物 探针mix中终浓度	单人份用量
Primer F(40 pmol/ μ l)	4 pmol/ μ l	5 μ l
Primer R(40 pmol/ μ l)	4 pmol/ μ l	
Taqman Probe(20 pmol/ μ l)	2 pmol/ μ l	

2. qRT-PCR反应条件：

按下表进行qRT-PCR程序设置：

步骤	温度	时间	循环数
1	50 °C	10 min	1 cycle
2	95 °C	3 min	1 cycle
3	95 °C	10 sec	40 cycles
	60°C（此步收集荧光）	30 sec	

根据引物（探针）设计确定退火温度。

结果检测：

对于qRT-PCR，反应结束后确认qRT-PCR的扩增曲线，并进行相应分析。

注意：举例仅供参考，实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据实际情况设定最佳反应条件。在操作中如发现管壁或管盖上有液体可以瞬时离心将其甩至管底。