

mTTx RNA Probe RT-qPCR MasterMix (with UDG)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

描述:

mTTx DNA/RNA 聚合酶经电子重构架技术，改变了 TTx 的活性配体中心，使其在 Mg²⁺条件下仍然具有极强的逆转录活性。mTTx DNA/RNA Polymerase 在 Mg²⁺条件下对于 DNA 模板和 RNA 模板扩增能力几乎无偏差，该试剂为进行 RNA TaqMan RT-PCR 的专用预混试剂。可以高灵敏的检测 RNA 分子。对于粗制样本该试剂可以直接进行检测，无需核酸纯化，尤其适用拭子样本。

mTTx DNA/RNA Polymerase 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 TaqMan 探针切割；（4）金属配体离子为 Mg²⁺，通常使用浓度 2-3.5 mM；（5）相比于 TTx DNA 聚合酶，mTTx 的耐热性能有所下降，92℃条件下的半衰期为 30min；（6）热启动版本的 mTTx 在 50℃条件下 100%无活性，92℃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。

组分

名称	1 ml	25 ml
2×mTTx MasterMix	1 ml	25 ml

储存：-20℃可保存 3 年。

注意：2×mTTx MasterMix 中包含优化的反应缓冲盐、dNTP (0.2mM each)、Mg²⁺ (5mM)，10%甘油，0.1 U/μl 的 HotStart mTTx DNA/RNA Polymerase，为 2 倍浓度。

反应实例

1. 按以下组分配制 RT-qPCR 反应液

2×mTTx MasterMix	10 μl
上游引物 (10 μM)	0.4 μl
下游引物 (10 μM)	0.4 μl
荧光探针 (10 μM)	0.2 μl
RNA	X μl
ddH ₂ O	Up to 20 μl

注意：引物和探针的使用浓度可在 0.1-0.8ul 直接调整。

2. Direct One-Step RT-PCR 程序

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

注意: mTTx 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 58-70°C 调整。