

4X RT-ddPCR Master Mix

货号: P2911, P2912

产品组成

Component	P2911	P2912
4X RT-ddPCR Master Mix*	1 ml	25 ml

*包含逆转录酶, RNase 抑制剂, 热敏 UDG 酶, 热启动 DNA 聚合酶, dNTPs 包含 dUTP, 以及缓冲液组分。

保存条件

-20°C

产品简介

4X RT-ddPCR Master Mix 是专门用于一步法多重数字荧光定量 Master Mix。可以同时检测 RNA 或 DNA 靶标序列。优化的缓冲液组可以生成均匀稳定的液滴, 在一个体系内完成 RT 及 PCR, 并实现多达 6 个 RNA/DNA 序列的多重 PCR。该混合液以 4 倍浓度提供, 能够加入更多的模板进行反应, 从而提高检测的灵敏度。本品含有 Cy5.5 染料, 用于液滴识别。

应用举例

1. 准备反应体系

1.1 按下表配置反应体系。于冰上融化所有试剂。配制多个反应孔时, 请为各组分预留 10% 的余量, 以免移液损失。

组分	体积
4X RT-ddPCR Master Mix	5.5 μ l
引物-探针	X μ l
样品	Y μ l
RT-PCR 级超纯水	to 22 μ l
总体积	22 μ l

备注:

- 1) 用户需自备的试剂: RNA 模板、引物探针混合液, 引物探针混合液浓度及体积需用户自行考量, 推荐引物终浓度 500nM, 探针终浓度 250nM。根据实际情况可使用多重引物探针混合液。
- 2) 本试剂盒中含有 Cy5.5 荧光染料用于液滴识别, 因此, 探针设计时不能使用 Cy5.5 标记。
- 3) RNA 样本上样体积、上样质量需用户根据实际情况调整, 过低的上样量将降低 RT-dPCR 的灵敏度, 过高的上样量将导致单液滴内样本拷贝数过多, 超过检测上限。

1.2 反应体系配好后, 用光学贴膜覆盖反应板, 充分翻转混匀, 离心。

2. 运行 RT-ddPCR 反应程序

标准反应体系:

步骤	阶段	循环数	温度	时间
逆转录	1	1	50°C	1200 sec
预变性	2	1	95°C	300 sec
扩增	3	45	95°C	30 sec
			50~60°C	60 sec

液滴识别通道: Cy5.5

备注: 整个扩增程序的设定中升温速率应不超过 2°C/s。逆转录反应的温度可以在 48°C 至 55°C 之间进行调整。

本品仅供科学研究使用。