

让多重基因定量不再受约束 ——RealTime ready 自由定制您的 qPCR 检测方法

RealTime ready qPCR 分析方法是罗氏诊断公司应用科学部于 2010 年最新推出的即用型 qPCR 定制检测方法，可快速灵敏地一次性定量 6-384 个基因的表达情况。您可于免费的 RealTime ready 在线配置工具上，自由选择人类相关靶基因并进行定制型多孔检测板的配置。除了通过基因名称搜索，您还可以直接从信号通路或功能基因组中直观地选择靶基因，整个定制过程就像您在网上购物一般，随心所欲，简单便捷。

检测技术

RealTime ready 检测基于罗氏独有的通用水解探针库 Universal ProbeLibrary (UPL) 技术。UPL 探针是短序列的水解探针，5' 末端标记荧光素(FAM)，3' 末端标记淬灭染料。根据短片段序列在生物基因组中的高重复特性，每个探针可与接近 7000 个转录子结合，每个转录子可被约 16 个不同的 UPL 探针所检测到。因此，仅需要 165 条短的水解探针，即可覆盖约 99% 的人类、小鼠、大鼠、果蝇、拟南芥等常见模式生物的基因组。为保持 qPCR 探针杂交至模板 DNA 上所需的特异性及溶解温度，特有的 Locked Nucleic Acids (LNA) 结构被整合入每条 UPL 探针序列中 (图 3)。因此，标准 PCR 条件下，高度特异性的 RealTime ready 检测可用于所有实时荧光 PCR 系统中。

RealTime ready qPCR 分析方法

每种 RealTime ready qPCR 分析方法均含有对应于您的靶基因的特异性引物及 UPL 水解探针。每种分析方法在设计后都使用通用生物学样品材料，以标准 PCR 条件在 LightCycler® 480 上进行过测试。

每种分析方法都能满足以下严格标准：

线性动态范围至少为 3 个数量级。v

PCR 扩增效率为 $v 2.0 \pm 0.2$ 。

标准曲线 R² 值为 0.99 至 v 1.00。

扩增特异性高，凝胶分析中无副产物生成。v

正如所有 UPL 检测，RealTime ready 检测可成功用于所有实时荧光 PCR 仪上。由于仅需加入模板和预混液，RealTime ready 可以大量节省您合成引物和荧光探针所需的时间，并且一次性完成您任意定制的靶基因组合的检测，可以获得大量有特别针对性的实验数据，非常适合用于表达谱芯片的下游验证等中等通量，且具有明确目标性的应用。

免费的在线设计工具

可使用在线的免费软件 Probe Finder 进行 RealTime ready 分析方法设计。有以下三种靶基因的导入方式。

“Search by Keyword”支持通过基因名称、基因标志、公共访问标识、生物学过程、蛋白功能或最多 5 个关键词进行搜索。通过“Batch Upload”功能，可最多进行 384 个不同访问标识的搜索。

“Search by Pathway”从细胞信号通路的直观图示中进行检测目标的选择。

“Search by Focus Panel”从大型基因家族如 GPCR、蛋白激酶，或功能相关群组如转录因子或离子通道等的预选择列表中进行检测目标选择。

凝胶分析中未检测出副产物

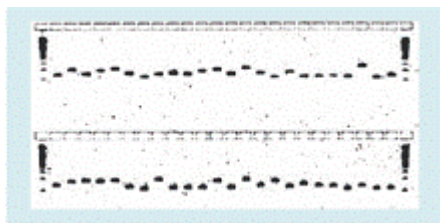


图 1: 应用 RealTime ready 检测 48 个人类 GPCR 家族的基因。

5 个数量级稀释检测扩增线性，显示 PCR 效率为 99.2 至 100 %。

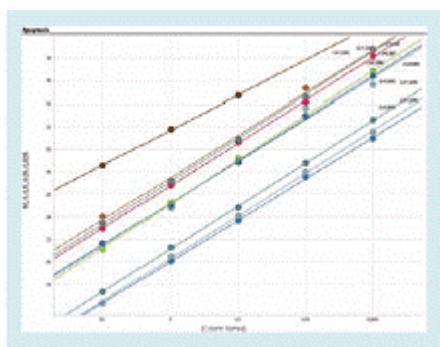


图 2: 对 12 个人凋亡信号通路检测，均进行 5 个数量级稀释并作线性图 (Cp vs 对数浓度)。

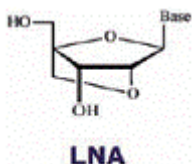


图 3: UPL 探针整合入 LNA 核苷酸.

Locked Nucleic Acids 是一类核苷酸类似物，可增强碱基堆积及骨架重组结构，显著增强核酸分子的热稳定性及双螺旋结构稳定性。

针对 LightCycler® 480 实时荧光 PCR 系统的 RealTime ready 定制型多孔检测板

LightCycler® 480 Multiwell Plates 96 或 384 孔定制型多孔检测板可根据您的需要进行

RealTime ready 方法选定。有大量不同的配置板式 (图 4、5) 可用。96 孔板预置及干燥处理后，支持 PCR 反应容积为 20µl，384 孔板为 10ul；检测时仅需添加 cDNA 与 RealTime ready DNA Probes Master，即可快速获得检测结果，检测结果真实可靠。

每块板最多保留 3 个孔用于您所选定的内参基因检测。而且，大多数板式的布局格式均具有预置的误差检测的设置。

当然，您也可以订购单个基因的分析方法，由罗氏为您设计并合成相应的 RealTime ready Assay。 [点击索取更多资料!](#)

您也可以访问 www.realtimeready.roche.com，通过观看简短的视频演示获取详细信息。

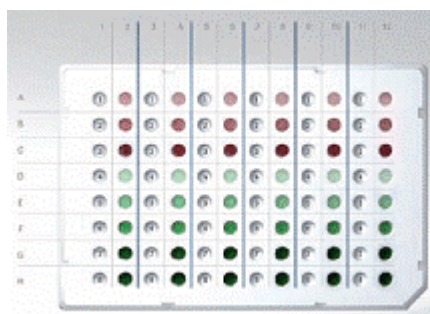


图 4: RealTime ready Custom Panel 96-16+

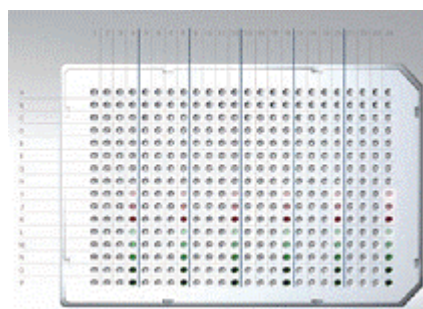


图 5: RealTime ready Custom Panel 384-64+