

荧光定量 PCR

荧光 PCR 不同于其他PCR的地方在于 PCR 过程中利用荧光染料在光刺激下释放的荧光能量的变化直接反映PCR扩增产物量的变化。荧光信号变量与扩增产物变量成正比，并通过足够灵敏的自动化仪器实现对荧光的采集和分析以达到对原始模板量定量的目的。

荧光 PCR 特点:

- ✔ 灵敏度高
- ✔ 特异性强
- ✔ 全封闭 PCR 过程，无需后处理
- ✔ 采用 dUTP-UNG 酶的防污染系统，有效降低污染机会
- ✔ 即时反映扩增过程，摒弃终点数据，更适用于定量
- ✔ 定量范围宽，可达到10个数量级，无需稀释样品
- ✔ 可实现一管多检
- ✔ 仪器自动分析，更快获得结果

类型		描述	特点
荧光染料		对引物进行荧光标记从而使荧光标记基团直接渗入PCR扩增产物。 荧光染料与 DNA 结合时发光，游离时不发光。信号强度与 DNA 分子总数目成正比。	<ul style="list-style-type: none"> ✔ 低成本，不需要探针 ✔ 适合初步筛查 ✔ 利用熔解曲线的功能，确定 PCR 生成几种物质，有无引物二聚体 ✔ 只能检测单一模板，无法多重检测 ✔ 只能给出总信号，无模板特异性 ✔ 灵敏度比较低
荧光标记引物		除常规引物外，引入荧光基团标记的特异性探针，探针可与模板发生一对一结合关系。	
荧光标记探针	Taqman 双标记探针	探针两端分别标记一个报告荧光基团和一个淬灭荧光基团。探针完整时，报告基团发射的荧光信号被淬灭基团吸收；PCR 扩增时，两基团分离从而发出荧光，并通过检测系统得以接收记录。荧光信号的积累和PCR产物的形成完全同步。	<ul style="list-style-type: none"> ✔ 特异性高 ✔ 多重基因定量 ✔ 荧光强度正比于产物 ✔ 不可逆反应，信号产生后不会自动淬灭
	分子信标探针		
	杂交双探针		