



5×Multiplex One-Step qRT-PCR Probe SuperMix (UNG)

5×Multiplex 一步法 qRT-PCR 探针法检测超级预混液 (UNG)

版本号: V250401

货号: A383

保存: -20°C

运输: 低温

货号	规格
A383-01	100 rxn
A383-10	1000 rxn
A383-100	10000 rxn

【产品概述】

5×Multiplex One-Step qRT-PCR Probe SuperMix (UNG)是新优化的 qRT-PCR 反应预混液, 其中 qRT-PCR 所需的酶 mix 和优化的 buffer 体系实现一管化, 只需加入模板和探针引物即可直接进行反应, 操作更加简单快捷, 可有效避免加样误差。本试剂盒扩增效率高、灵敏度高、特异性强, 可有效完成 1-4 重 qRT-PCR 检测; 另外采用 dUTP/热敏 UNG 防污染系统, 有效防止气溶胶污染。本产品不仅适用于 RNA 模板的 qRT-PCR 多重检测, 也适用于 DNA 模板的 qPCR 多重检测, 还可兼容快速程序, 大大缩短检测时间。

【产品特点】

1. 操作便捷: 酶 mix 和反应 Buffer 一管化, 操作更加简单快捷, 可有效避免加样误差。
2. 灵敏高效: 优化比例的逆转录酶和热启动酶, 配合优化的缓冲体系, 保证高效扩增。
3. 热敏UNG防污染系统: 采用热敏UNG, 可消除气溶胶对qRT-PCR的影响。
4. 多重扩增: 兼容 qRT-PCR 和 qPCR 多重探针法荧光定量检测。
5. 快速扩增: 实现30 min快速扩增, 提高检测效率。
6. 模板兼容性: 能够同时适用于DNA和RNA模板的高效扩增。

【产品组分】

组分货号	组分名称	A383-01	A383-10	A383-100
ZA383-101	5×Multiplex One-Step qRT-PCR Probe SuperMix (UNG)	400 µl	4 ml	40 ml
ZA220	Nuclease-free Water (DEPC-treated)	1 ml	5 ml×2	100 ml

注: 本产品不提供 ROX Reference Dye。不同仪器所需 ROX Reference Dye 不同, 如需添加, 需致电本公司或向服务您的销售人员索取:

需加 High ROX Reference Dye (50×)的机型: ABI Prism7000/7300/7700/7900HT 和 ABI StepOne /ABI StepOne Plus。

需加 Low ROX Reference Dye (50×)的机型: ABI Prism7500 /7500 Fast, MJ Research Chromo4, Opticon (II), Corbett Rotor Gene 3000。

无需加 ROX Reference Dye 的机型: Thermal Cycler Dice Real Time System, LightCycler, Smart Cycler System, Corbett Rotor-gene 6000, Agilent Technologies Mx3000P 等荧光定量 PCR 仪。

【保存条件】

-20°C保存, 保质期 12 个月。

【注意事项】

1. 实验过程中请注意避免 RNase 污染。建议在专门的区域进行 RNA 操作, 使用专门的仪器和耗材, 操作人员需戴口罩和一次性手套并经常更换手套。
2. 除酶以外的试剂使用之前请在室温完全溶解后放置冰上。使用前上下颠倒混匀并短暂离心, 避免剧烈振荡产生过多气泡。
3. 本制品只能使用基因特异性引物, 不能使用 Random Primer 和 Oligo18 (dT)等进行反转录反应。
4. RNA 模板的完整性对 cDNA 合成效率起着决定性作用, 因此请选择可靠的 RNA 提取/纯化方法。建议使用 GenStar 总 RNA 提取试剂和 StarSpin 柱式动物 RNA 提取试剂盒 (Cat#P118、Cat#P133 等) 制备高质量的 RNA 模板。



【操作步骤】

一、按照下表配制反应体系（以 20 μ l 反应体系为例）：

组分	体积 (μ l)
RNA 模板 ^a	1-5 μ l
Primer&Probe Mix ^b	X μ l
5 \times Multiplex One-Step qRT-PCR Probe SuperMix (UNG)	4 μ l
Nuclease-free Water (DEPC-treated)	补至 20 μ l

^a qPCR 灵敏度极高，建议将模板进行稀释使用，Ct 值控制在 20-35 之间。

^b Primer & Probe Mix 中可包含多对引物和探针，引物浓度一般是 0.2 μ M，可根据扩增情况在 0.1-1.0 μ M 范围内调整；探针终浓度在 0.05-0.5 μ M 范围内调整。

二、反应程序设置：

1. 快速程序

在“Experiment Properties”界面“Run mode”下选择“Fast”模式，扩增程序如下：

流程	温度	时间	循环数
反转录 ^c	55 $^{\circ}$ C	2 min	
预变性	95 $^{\circ}$ C	2 s	
变性	95 $^{\circ}$ C	1 s	40
退火-延伸 ^d	60 $^{\circ}$ C	10 s	

快速程序中各阶段反应时间、升降温速度可根据实际使用 Real Time PCR 仪及自身需求进行调整。

2. 标准程序

1) 两步法：

流程	温度	时间	循环数
反转录 ^c	50 $^{\circ}$ C	10 min	
预变性	95 $^{\circ}$ C	2 min	
变性	95 $^{\circ}$ C	10 s	35-45
退火-延伸 ^d	60 $^{\circ}$ C	30 s	

2) 三步法^e：

流程	温度	时间	循环数
反转录 ^c	50 $^{\circ}$ C	10 min	
预变性	95 $^{\circ}$ C	2 min	
变性	95 $^{\circ}$ C	10 s	35-45
退火	55-65 $^{\circ}$ C	15 s	
延伸	72 $^{\circ}$ C	30 s	

^c 反转录步骤的反应温度和时间，可根据实验应用场景做适当调整。50 $^{\circ}$ C 孵育 10 min，可满足绝大多数基因的检测需求。如遇复杂模板或高 GC 基因，反转录温度可调整至 55 $^{\circ}$ C；如目标基因的拷贝数低，可将孵育时间延长至 15 min。

^d 延伸时间请根据您使用的 Real Time PCR 仪所需要的数据采集最短时间限制自行调整：使用 ABI 7700 和 7900HT 时至少 30 s；使用 ABI 7000 和 7300 时至少 31 s；使用 ABI 7500 时至少 34 s。

^e 当两步法扩增效率不好的时候建议选择三步法进行 qPCR 反应。

三、在相应的 real-time PCR 仪器上完成实验，并分析实验结果。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任，仅限于此产品的价值本身。