



Multiplex One-Step qRT-PCR Probe Kit (UNG)

Multiplex 一步法 qRT-PCR 试剂盒-探针法 (UNG)

版本号: V240401

货号: A388

保存: -20°C

运输: 低温

货号	规格
A388-01	100 rxn
A388-10	1000 rxn
A388-100	10000 rxn

【产品概述】

Multiplex One-Step qRT-PCR Probe Kit (UNG) 是一步法多重 qRT-PCR 试剂盒 (探针法)。本试剂盒经过特殊优化, 可有效完成 1-4 重 qRT-PCR 检测, 灵敏度高、特异性强。在实验的过程中, cDNA 合成和 qPCR 反应在同一反应体系中完成, 简化了实验操作、降低了污染的风险。另外本试剂盒采用 dUTP/热敏 UNG 防污染系统, 有效防止气溶胶污染, 且热敏 UNG 在逆转录时可迅速失活, 保证 qRT-PCR 的扩增效率。本产品适用于 RNA 病毒、微量 RNA 模板的多重检测, 灵敏度可达到 1 pg 总 RNA 或 <10 拷贝的 RNA 模板。

【产品特点】

1. 高扩增效率: 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。
2. 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。
3. 兼容多重探针法荧光定量检测。

【产品组分】

组分货号	组分名称	A388-01	A388-10	A388-100
ZA388-101	Multiplex One-Step Probe Enzyme Mix (UNG)	150 µl	1.5 ml	5 ml×3
ZA388-102	2×One-Step Probe Multiplex Buffer (dUTP)	1.5 ml	5 ml×3	75 ml×2
ZA220-101	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. 当进行多管 qRT-PCR 反应时, 建议先配制预混试剂 mix, 再分装到每个反应管中, 以减少实验操作误差。
5. 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】

1. 按照下表配制反应体系（以 30 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
2×One-Step Probe Multiplex Buffer (dUTP)	15 μ l
Multiplex One-Step Probe Enzyme Mix (UNG)	1.5 μ l
Nuclease-free Water (DEPC-treated)	补至 30 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。

2. 反应程序设置：

1) 两步法：

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

2) 三步法^e：

流程	温度	时间	循环数
反转录 ^c	50°C	10 min	
预变性	95°C	2 min	
变性	95°C	10 s	35-45
退火	55-65°C	15 s	
延伸	72°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°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°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。

3. 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。