

Multiplex Probe qPCR Master Mix(UNG)

Multiplex 荧光定量 PCR 试剂盒-探针法(UNG)

产品编号	产品名称	规格
BL1928A	Multiplex 荧光定量 PCR 试剂盒-探针法(UNG)	5×1 mL

产品简介:

2×Multiplex Probe qPCR Master Mix(UNG)是基于探针法进行多重 qPCR 反应的即用型试剂。本产品采用抗体法修饰热启动 DNA 聚合酶,搭配经过优化的缓冲体系,保证多重靶标扩增的特异性、灵敏度和扩增线性。本产品可实现对多重靶基因进行准确定量和 qPCR 检测,重复性好。此外,试剂中加入的 dUTP/UNG 防污染系统,室温下即可发挥作用,可消除扩增产物污染对 qPCR 的影响。

本产品为 2×预混液,使用时只需加入模板、引物、探针、ROX Reference Dye(根据不同荧光定量 PCR 仪选择使用)和水,即可进行反应,使用方便,可兼容快速程序,缩短检测时间。

产品组成:

编号	组分	规格
BL1928A	2×Multiplex Probe qPCR Master Mix(UNG)	5×1 mL

* 注:不同仪器所需 ROX Reference Dye 不同:需加 High ROX Reference Dye 的机型:ABI Prism7000/7300/7700/7900HT 和 ABI Step One /ABI Step One Plus。需加 Low ROX Reference Dye 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:

收到本产品后,请立即置于-20℃避光保存,两年有效。避免反复冻融。如果经常使用,可置于 4℃保存至少 3 个月。

使用说明:

一、反应体系配制:

使用前请上下颠倒轻轻混匀,尽量避免起泡,并经短暂离心后使用。

参考下表配制反应体系:

组分	20 μL 体系
DNA 模板 ^①	1 μL
Primer Mix ^②	0.5 μL
Probe ^③	0.5 μL
2×Multiplex Probe qPCR Master Mix(UNG)	10 μL
RNase-Free ddH ₂ O	补足至 20 μL

①模板量:10-100 ng 基因组 DNA,或 1-10 ng cDNA 为参照,因不同物种的模板中含有的目的基因拷贝数不同,可对模板进行梯度稀释,以确定最佳的模板使用量。

②引物:通常引物浓度以 0.2 μM 可以得到较好结果,可以终浓度 0.1-1.0 μM 作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下,可提高引物的浓度;发生非特异性反应时,可降低引物浓度,由此优化反应体系。为了获得理想的 qPCR 的效果,扩增片段的长度建议为 80-200 bp。

③使用的探针浓度,与使用的荧光定量 PCR 仪、探针种类、荧光标记物质种类有关,实际使用时请参照

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



仪器说明书，或各荧光探针的具体使用要求进行浓度的调节。根据反应重数的增加做相应的增加。

二、PCR 反应条件的设置：

建议采用两步法 qPCR 反应程序，如果该程序不能得到良好的实验结果时，再进行 qPCR 条件的优化。如使用 T_m 值较低的引物或扩增片段较长等原因，两步法 qPCR 反应扩增性能较差时，可以尝试进行三步法 qPCR 扩增反应。

1. 两步法反应程序：

步骤	温度	持续时间	循环数
UNG 酶处理	50°C	5 min	
预变性	95°C	3 min	
变性	95°C	15 sec	35~45
退火/延伸	60°C	30 sec ^①	

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；使用 ABI StepOne Plus 时至少 10 s。

2. 三步法反应程序：

步骤	温度	持续时间	循环数
UNG 酶处理	50°C	5 min	
预变性	95°C	3 min	
变性	95°C	15 sec	35~45
退火	60°C	15-30 sec	
延伸	72°C	30 sec ^①	

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；使用 ABI StepOne Plus 时至少 10 s。

注：以上举例为常规 qPCR 反应系统，仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据模板、引物、目的片段的特点设定最佳反应条件，并根据比例放大或缩小反应体系。

三、上机检测：

将反应体系置于荧光定量 PCR 仪中，运行程序收集数据并分析结果。

注意事项：

1. 使用时请上下颠倒轻轻混匀，不要使用振荡器，尽量避免出现泡沫，短暂离心后使用。
2. 引物纯度对反应特异性影响很大，建议使用 PAGE 级别以上纯化的引物。
3. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品；
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

