

2×Multiplex One-Step qRT-PCR Probe Mix(UNG)

2×Multiplex 一步法反转录-荧光定量 PCR 预混液-探针法(UNG)

产品编号	产品名称	规格
BL1930A	2×Multiplex 一步法反转录-荧光定量 PCR 预混液-探针法(UNG)	100 T
BL1930B	2×Multiplex 一步法反转录-荧光定量 PCR 预混液-探针法(UNG)	1000 T

产品简介:

2×Multiplex One-Step qRT-PCR Probe Kit (UNG) 是 RT-qPCR 反应预混液, 其中 RT-qPCR 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。本试剂盒可有效完成 1-4 重 qRT-PCR 检测, 灵敏度高、特异性强; 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。

产品组分:

组分名称	BL1930A	BL1930B
2×Multiplex One-Step Probe Enzyme Mix(UNG)	1.5 mL	5 mL×3
Nuclease-free Water	1 mL	5 mL×2

* 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。

操作步骤:

1. 按照下表配制反应体系 (以 30 μL 反应体系为例):

组分	体积
RNA 模板*	1~5 μL
Primer&Probe Mix**	X μL
Multiplex One-Step Probe Enzyme Mix(UNG)	15 μL
Nuclease-free Water	补至 30 μL

*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。

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

2. 反应程序设置:

两步法流程	温度	时间	循环数
反转录***	50°C	10 min	
预变性	95°C	2 min	
变性	95°C	10 s	} 35~45
退火-延伸*	60°C	30 s	

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。



三步法流程**	温度	时间	循环数
反转录***	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	

* 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。

** 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。

*** 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。

3. 在适当的 qPCR 仪器上完成实验, 并分析结果。

注意事项:

1. 实验所用的离心管、枪头等耗材均需保证 RNase-free。
2. 各个组分在使用之前请完全溶解并充分混匀, 以防因盐离子浓度不均影响实验结果。
3. 制品只能使用特异性反转录引物, 不能使用 Random Primer 和 Oligo18 (dT)等进行反转录反应。
4. 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。
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

-20°C避光保存, 保质期 12 个月。

