

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

### Multiplex 一步法反转录-荧光定量 PCR 试剂盒-探针法(UNG)

产品编号	产品名称	规格
BL1929A	Multiplex 一步法反转录-荧光定量 PCR 试剂盒-探针法(UNG)	100 T
BL1929B	Multiplex 一步法反转录-荧光定量 PCR 试剂盒-探针法(UNG)	1000 T

#### 产品简介:

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。

#### 产品组分:

组分名称	BL1929A	BL1929B
Multiplex One-Step Probe Enzyme Mix(UNG)	150 $\mu$ L	1.5 mL
2 $\times$ One-Step Probe Multiplex Buffer(dUTP)	1.5 mL	5 mL $\times$ 3
Nuclease-free Water	1 mL	5 mL $\times$ 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  $\mu$ L 反应体系为例):

组分	体积
RNA 模板*	1~5 $\mu$ L
Primer&Probe Mix**	X $\mu$ L
2 $\times$ One-Step Probe Multiplex Buffer(dUTP)	15 $\mu$ L
Multiplex One-Step Probe Enzyme Mix(UNG)	1.5 $\mu$ L
Nuclease-free Water	补至 30 $\mu$ L

\*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  $\mu$ M,可根据扩增情况在 0.1-1.0  $\mu$ M 范围内调整;探针终浓度在 0.05-0.5 $\mu$ M 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 $^{\circ}$ C	10 min	
预变性	95 $^{\circ}$ C	2 min	
变性	95 $^{\circ}$ C	10 s	} 35~45
退火-延伸*	60 $^{\circ}$ 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。

