



2×Multiplex Fast Probe Mix (UNG) 2×Multiplex Fast 探针法 qPCR 预混液 (UNG)

版本号: V230901

货号: A392
保存: -20°C
运输: 低温

货号	规格
A392-01	1.1 ml
A392-10	1.1 ml×10
A392-100	1.1 ml×100

【产品概述】

2×Multiplex Fast Probe 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。

【产品特点】

1. 广泛的兼容性: 可兼容极其宽泛的产物 GC 含量和引物 Tm 值。
2. 多重检测: 单个反应孔中, 不同基因对应不同探针, 不同探针对应不同荧光标记, 可进行多重荧光定量 PCR 检测。
3. 防污染系统: 试剂中加入的 dUTP/UNG 防污染系统, 可消除扩增产物污染对 qPCR 的影响。

【产品组分】

组分货号	组分名称	A392-01	A392-10	A392-100
ZA392-101	2×Multiplex Fast Probe Mix (UNG)	1.1 ml	1.1 ml×10	1.1 ml×100

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 Step One /ABI Step One 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, 避光, 保质期 24 个月, 避免反复冻融。如果经常使用, 可置于 4°C 保存至少 3 个月。

【使用方法】

用户需自备的试剂: cDNA 或 DNA 模板、引物、探针。

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。

操作示例: 以 20 μl 体系为例

1. qPCR 反应体系

组分	体积 (μl)
DNA模板 ^a	1-100 ng
Primer Mix ^b	0.1-1 μM
探针 ^c	0.1-0.4 μM
2×Multiplex Fast Probe Mix (UNG)	10 μl
High/Low ROX Reference Dye ^d	0.4 μl
Sterile Water	补足至20 μl

^a模板量: 10-100 ng 基因组DNA, 或 1-10 ng cDNA, 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。



^b引物：通常引物浓度以0.2 μM可以得到较好结果，根据反应重数的增加做相应的增加，可以终浓度0.1-1 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。

^c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。

^d不同仪器所需 ROX Reference Dye 不同，或需要添加或不需要添加，请根据仪器说明进行操作。

2. qPCR 反应程序设置

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 Tm 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。

两步法流程：

流程	温度	时间	循环数
UNG 酶处理	50°C	5 min	1
预变性	95°C	3 min	1
变性	95°C	15 s	35-45
退火-延伸	60°C	30 s ^a	

^a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；使用 ABI StepOne Plus 时至少 10 s。

三步法程序（常规程序）：

流程	温度	时间	循环数
UNG 酶处理	50°C	5 min	1
预变性	95°C	3 min	1
变性	95°C	15 s	35-45
退火	55-65°C	15-30 s	
延伸	72°C	30 s ^a	

^a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；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。

3. 选择合适的 real time PCR 仪完成实验，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。