

# TransScript® II Multiplex Probe One-Step qRT-PCR SuperMix UDG

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AQ322

保存: -20°C保存两年。

## 产品说明

TransScript® II Multiplex Probe One-Step qRT-PCR SuperMix UDG是具有高灵敏度、高合成效率和高扩增效率的一步法qRT-PCR试剂盒。本试剂盒以RNA为模板，反向基因特异引物为反转录引物合成第一链cDNA；然后以合成的cDNA为模板，用正向、反向基因特异引物及荧光探针进行qPCR，在同一反应体系中一步完成从反转录到qPCR的全部反应。经过特殊优化，本试剂盒具有高度的扩增均一性，可以有效完成多重一步法qRT-PCR。此外，本试剂盒引入了dUTP/UDG系统，可在反转录前降解含U的ssDNA和dsDNA，消除由PCR产物导致的交叉污染。

## 特点

- 用TransScript® II Multiplex Probe One-Step Enzyme Mix UDG、2×PerfectStart® Multiplex Probe One-Step Reaction Mix高效地将RNA合成第一链cDNA，进行qPCR。操作简便，降低操作过程中的污染几率。
- 使用UDG酶和dUTP，有效防止PCR产物的交叉污染，数据准确。
- 高灵敏度，高特异性，数据准确。

## 适用范围

- 1~4重qRT-PCR检测。
- 高拷贝、低拷贝基因检测。
- 高GC含量或具有复杂二级结构的RNA模板。
- RNA病毒、微量RNA的检测。

## 产品组成

Component	AQ322-01	AQ322-02
TransScript® II Multiplex Probe One-Step Enzyme Mix UDG	80 µl	320 µl
2×PerfectStart® Multiplex Probe One-Step Reaction Mix	1 ml	4×1 ml
Passive Reference Dye (50×)	40 µl	160 µl
RNase-free Water	1 ml	4×1 ml

推荐qPCR体系与条件 (以20 µl 三重一步法RT-qPCR反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
RNA Template	1 pg-100 ng	as required
Primer-Probe Mix 1	Variable	0.4 µM forward primer 1 <sup>a</sup>
		0.4 µM reverse primer 1 <sup>a</sup>
		0.1 µM probe 1 <sup>b</sup>
Primer-Probe Mix 2	Variable	0.4 µM forward primer 2 <sup>a</sup>
		0.4 µM reverse primer 2 <sup>a</sup>
		0.1 µM probe 2 <sup>b</sup>
Primer-Probe Mix 3	Variable	0.4 µM forward primer 3 <sup>a</sup>
		0.4 µM reverse primer 3 <sup>a</sup>
		0.1 µM probe 3 <sup>b</sup>
2×PerfectStart® Multiplex Probe One-Step Reaction Mix	10 µl	1×
TransScript® II Multiplex Probe One-Step Enzyme Mix UDG	0.8 µl	-
Passive Reference Dye (50×) (optional)	0.4 µl	1×
RNase-free Water	Variable	-
Total volume	20 µl	-

a. 一般引物浓度为0.4 µM时，即可获得理想的扩增效果；但反应性能较差时，可以在0.2-1.0 µM范围内调整引物浓度。

b. 探针浓度可以在0.1-0.3 µM之间调整，以获得最理想扩增效果。



### qPCR (两步法)

50°C	5 min	
94°C	30 sec	
94°C	5 sec	} 40-45 cycles
60°C	30 sec ★	

对于ABI仪器，荧光信号采集步骤的时间如下

- ★使用ABI Prism7700/7900时，采集时间设定为30秒；
- ★使用ABI Prism7000/7300时，采集时间设定为31秒；
- ★使用ABI Prism7500时，采集时间设定为34秒；
- ★使用ABI ViiA 7时，采集时间设定为至少19秒。

### Passive Reference Dye适用机型

- Passive Reference Dye I (50×)

ABI Prism 7000/7300/7700/7900, ABI Step One, ABI Step One Plus, ABI 7900HT, ABI 7900HT Fast

- Passive Reference Dye II (50×)

ABI Prism 7500, ABI Prism 7500 Fast, ABI QuantStudio Dx/3/5, ABI QuantStudio 6/7/12K Flex, ABI ViiA 7, Stratagene Mx3000P/Mx3005P/Mx4000

- No Passive Reference Dye

Roche LightCycler 480, Roche Light Cyler 96, MJ Research Chromo4, MJ Research Opticon 2, Takara TP-800, Bio-Rad iCycler iQ, Bio-Rad iCycler iQ5, Bio-Rad CFX96, Bio-Rad C1000 Thermal Cycler, Thermo Scientific Pikoreal 96, Qiagen Corbett Rotor-Gene 6000, Qiagen Corbett Rotor-Gene G, Qiagen Corbett Rotor-Gene Q, Qiagen Corbett Rotor-Gene 3000, Mastercycler ep realplex

### 注意事项

- 避免RNase污染。
- 为保证反转录成功，请使用高质量的RNA模板。
- 本试剂盒只适用于基因特异引物，不能使用Oligo(dT)或Random Primer 合成cDNA。
- Probe的工作浓度会影响Ct值，请根据实验结果确定Probe的最佳用量。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202108

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

