

产品概述

FastAmpli Premix-UNG IV (Probe qPCR) 是采用探针法进行 Real Time PCR 定性、定量反应的专用试剂，含有经基因改造筛选得来的可快速扩增的 DNA 聚合酶，能在 30 min 内完成 PCR 反应。本品经 Buffer 体系的配套优化，适用于多重扩增。本试剂采用抗抑制扩增酶与 UNG 酶的混合酶，以及含有 dUTP 的优化 Buffer 体系，不但能够实现含抑制物样品中目的基因的良好扩增，而且可以有效防止 PCR 产物残留、气溶胶污染所带来的假阳性反应。本品与多数厂家的荧光定量 PCR 仪兼容，如 Applied Biosystems、Eppendorf、Bio-Rad 和 Roche 等。

试剂组成

2×FastAmpli Premix-UNG IV (Probe qPCR)

*本试剂已含有热启动 DNA 聚合酶、UNG、PCR Buffer、MgCl₂、dNTPs、稳定剂等成分。

保存条件

-20℃长期保存，4℃可保存 3 个月。使用前应混匀，避免反复冻融。

qPCR 反应体系配制

试 剂	25 μL 体系	50 μL 体系	终浓度
2×FastAmpli Premix-UNG IV (Probe qPCR)	12.5 μL	25 μL	1×
25×Primer-Probe Mix ^{1,2}	1 μL	2 μL	1×
Template DNA ³	---	---	---
ddH ₂ O	To 25 μL	To 50 μL	---

1. 使用普通 PCR 程序扩增时，通常引物终浓度为 0.2 μM 可以得到较好结果；反应性能较差时，可以在 0.2~1 μM 范围内调整引物浓度。通常探针浓度在 0.1~0.3 μM 范围内优化。可进行浓度梯度的实验，寻找引物和探针的最佳组合。
2. 使用快速 PCR 程序扩增时，适当提高引物探针浓度有可能获得更好的扩增结果，引物探针比例应进行配比优化。
3. 不同种类的模板中含有的靶基因的拷贝数不同，必要时可进行梯度稀释，确定最佳的模板添加量。

反应条件

普通 PCR 程序				快速 PCR 程序			
步骤	温度	时长	循环数	步骤	温度	时长	循环数
消化	50℃	2 min	1	消化	50℃	2 min	1
热启动	95℃	1~5 min	1	热启动	95℃	30 s	1
变性	95℃	10~20 s	40~50	变性	95℃	1~3 s	40~45
退火延伸	56~64℃	20~60 s		退火延伸	56~64℃	3~20 s	

质量控制

1. 功能检测：qPCR 的敏感性、特异性、可重复性。
2. 无外源核酸酶活性，无外源内切、外切核酸酶污染。

技术说明

1. 本品所含快速 DNA 聚合酶的扩增速率不低于 1 kb/10 s。不同快速 PCR 仪其升降温速、控温模式、导热效率差异较大，建

货号: M2181-4

2×FastAmpli Premix-UNG IV
(Probe qPCR)

2024V01



议结合具体快速 PCR 仪，进行其最适反应条件的优化。

2. 具有更高的特异性，能够显著提升荧光定量 PCR 极限检测的灵敏度，使极低浓度模板的扩增曲线归一性、荧光值获得明显改善，适合用作高灵敏度荧光定量 PCR 检测试剂。
3. 对于退火温度较低的引物或超过 200 bp 长片段扩增建议采用三步法。
4. 不同待扩增基因对 dUTP 的利用效率和对 UNG 酶的敏感度不同，因此，如果采用 UNG 体系导致检测灵敏度下降，应对反应体系进行调整优化，如需技术支持请与我公司联系。
5. 扩增前后请使用专用的区域和移液器，戴手套操作并经常更换；PCR 反应完成后切勿打开反应管，以最大限度地减少 PCR 产物对样品的污染。