



Lyophilized Animal Detection Probe Mixture (UNG)

目录号：CW3221S (48 rxns)
CW3221M (100 rxns)

保存条件：4-30℃保存，复溶后未使用完毕可存放于-20℃，尽量避免反复冻融。

产品内容

Component	CW3221S 48 rxns	CW3221M 100 rxns
Lyophilized Animal Detection Probe Mixture (UNG)	6×八联排	1×西林瓶

产品简介

Lyophilized Animal Detection Probe Mixture (UNG) 是一款适用于探针法检测DNA病毒的专用原位全组分冻干试剂，包含新型抗体修饰的Taq DNA聚合酶、PCR Buffer、dNTPs、Mg²⁺以及增强剂和稳定剂。使用方便快捷，仅需加入引物探针，提取后核酸样本即可上机扩增。该产品可以兼容单重与多重探针法qPCR反应体系。

本产品中运用了dUTP-UNG防污染系统，在PCR反应体系配制过程中加入了dUTP，因此就形成了含有dU碱基的扩增产物。而此产物可以在下次进行PCR反应前，由PCR体系中的UNG酶处理消除。这样就有效的去除了PCR产物的残留污染，大大降低了由于扩增产物污染而导致的假阳性。UNG酶在PCR循环中的预变性步骤即可被灭活，因此不会影响新的含dU碱基PCR产物的形成。

注意事项

- 本产品长期保存可置于4-30℃，更长时间储存可置于-20℃。如复溶后未能用完可置于-20℃保存，避免反复冻融。
- ROX染料用于校正定量PCR孔间产生的荧光信号误差，本品中不含ROX染料，如所使用仪器需匹配ROX染料，请联系当地业务或致电康为世纪客服，电话4006-222-360。

八联排冻干PCR反应体系

试剂	25 μ L体系	终浓度
Lyophilized Animal Detection Probe Mixture (UNG)	1孔	
ddH ₂ O	12.5 μ L	
引物探针mix ¹⁾	X μ L	
Template DNA ²⁾	5 μ L	
50 \times ROX reference dye (optional) ³⁾	0.5 μ L	1 \times
ddH ₂ O	Up to 25 μ L	

西林瓶冻干PCR反应体系

西林瓶中加入1.3 mL ddH₂O复溶，涡旋混匀10 s，短暂离心备用。

试剂	25 μ L体系	终浓度
Lyophilized Animal Detection Probe Mixture (UNG) -西林瓶复溶后	12.5 μ L	
引物探针mix ¹⁾	X μ L	
Template DNA ²⁾	5 μ L	
50 \times ROX reference dye (optional) ³⁾	0.5 μ L	1 \times
ddH ₂ O	Up to 25 μ L	

注意：

- 1) 通常引物终浓度以0.2 μ M可以得到较好结果，可以在0.1-1.0 μ M作为设定范围的参考。所用探针的终浓度，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。
- 2) DNA模板用量上表以5 μ L为例，可自行调整模板与复溶水的用量。
- 3) 不同仪器的激发光学系统有所不同，根据使用荧光定量的仪器选择加入50 \times Low ROX or 50 \times High ROX。不同机型ROX reference dye使用情况参考下表。

无需添加ROX校正的仪器	Roche LightCycler 480, Roche LightCycler 96, Bio-rad iCycler iQ, iQ5, CFX96等
需要Low ROX校正的仪器	ABI Prism7500/7500 Fast, QuantStudio® 3 System, QuantStudio® 5 System, QuantStudio® 6 Flex System, QuantStudio® 7 Flex System, ViiA 7 system, Stratagene Mx3000/Mx3005P, Corbett Rotor Gene 3000等
需添加High ROX校正的仪器	ABI Prism7000/7300/7700/7900, Eppendorf, ABI Step One/Step One Plus等

PCR反应条件

步骤	温度	时间	循环
UNG消化	50℃	2 min	1
预变性	95℃	30 s ¹⁾	1
变性	95℃	10 s	} 45
退火/延伸	60℃	20 s ²⁾	

注意:

1) 本产品所采用的酶在预变性95℃、30 s条件下实现酶的活化。在此条件下,大多数模板可良好的进行解链。对GC含量高、二级结构复杂的模板,可将预变性时间延长至1 min,以使起始模板充分解链,若高温处理时间过长,会对酶的活性造成影响;对于简单模板也可采用预变性20 s,可根据模板情况确定最佳的预变性时间。

2) 建议采用两步法PCR反应程序,退火温度请以58-64℃作为设定范围的参考,发生非特异性反应时,可提高退火温度。若因使用Tm值较低的引物或者扩增产物过长等原因,得不到良好的实验结果时,可尝试进行三步法PCR扩增,退火温度请以56℃-64℃的范围作为设定参考。

几种常见仪器的退火延伸时间设定如下:

使用Roche, BioRad、Agilent和宏石、东胜等公司荧光定量PCR仪时请设定在20 s。

使用ABI 7000/7300/7500时请设定在30 s。

退火、延伸时间可根据使用不同型号仪器和不同模板进行设定,请按照仪器使用说明书要求进行实验操作。