



# SuperFast Probe One Step RT-qPCR U<sup>+</sup> Kit

**目录号：** CW3327S (200 rxns)

**保存条件：** -30°C ~ -15°C 保存，≤0°C 运输。

## 产品内容

Component	CW3327S 200 rxns
5×SuperFast One Step RT-qPCR U <sup>+</sup> Buffer	1 mL
SuperFast One Step U <sup>+</sup> Enzyme	200 μL
RNase-Free Water	2×1.5 mL

## 产品简介

SuperFast Probe One Step RT-qPCR U<sup>+</sup> Kit 专为以RNA为模板(如RNA病毒)的定量PCR检测而设计。使用基因特异性引物(GSP)，逆转录和qPCR反应在一管内完成，不需要额外的开管/移液操作，大大提高了检测通量，并降低了污染的风险。本试剂盒中引入了dUTP/UNG防污染系统。热敏感UNG在室温下即可将含U的污染物迅速降解；55°C 逆转录时迅速失活，不会影响qRT-PCR的效率和灵敏度。配合经过优化的缓冲体系和抗体修饰Taq酶以及突变后的M-MLV，SuperFast Probe One Step RT-qPCR U<sup>+</sup> Kit的检测灵敏度可达到0.1pg总RNA或<10拷贝的RNA模板且具有更高的热稳定性。5×SuperFast One Step RT-qPCR U<sup>+</sup> Buffer包含优化的缓冲体系和dNTP/dUTP Mix，尤其适用于TaqMan等荧光标记探针的高特异性、低模板浓度和多重快速检测。

## 注意事项

使用前请在本品完全融化后上下颠倒轻轻混匀，尽量避免起泡，并经短暂离心后使用。避免反复冻融本品。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。

## PCR反应体系

试剂	50 $\mu$ L体系	25 $\mu$ L体系	终浓度
5 $\times$ SuperFast One Step RT-qPCR U <sup>+</sup> Buffer	10 $\mu$ L	5 $\mu$ L	1 $\times$
SuperFast One Step U <sup>+</sup> Enzyme	2 $\mu$ L	1 $\mu$ L	
Forward Primer, 10 $\mu$ M	1 $\mu$ L	0.5 $\mu$ L	0.2 $\mu$ M <sup>1)</sup>
Reverse Primer, 10 $\mu$ M	1 $\mu$ L	0.5 $\mu$ L	0.2 $\mu$ M
Probe <sup>2)</sup>	0.5 $\mu$ L	0.25 $\mu$ L	0.1 $\mu$ M
Template RNA <sup>3)</sup>	X $\mu$ L	X $\mu$ L	
RNase-Free Water	Up to 50 $\mu$ L	Up to 25 $\mu$ L	

### 注意:

- 1) 通常引物终浓度以0.2 $\mu$ M可以得到较好结果, 可以在0.1-1.0 $\mu$ M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。
- 2) 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。
- 3) 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。

## PCR反应条件

步骤	温度	时间	循环
逆转录	55 $^{\circ}$ C	1 min	1
预变性	95 $^{\circ}$ C	10s <sup>1)</sup>	1
变性	95 $^{\circ}$ C	1 s	} 40-45
退火/延伸	55-60 $^{\circ}$ C <sup>2)</sup>	10-15s <sup>3)</sup>	

### 注意:

- 1) 本产品所采用的酶在预变性95 $^{\circ}$ C, 30s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1min, 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1-10s, 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55-60 $^{\circ}$ C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。
- 3) 实际使用的Real Time PCR仪是否支持快速扩增循环, 初次尝试请进行预实验验证。

本产品仅供科研使用, 请勿用于临床诊断及和其他用途