



Lyo-easy Probe Mixture (UNG)

Cat. No. CW3381S (16rxns)

CW3381M (48rxns)

产品简介

Lyo-easy Probe Mixture (UNG) 是一款适用于探针法检测DNA的专用全组分冻干微球制品，冻干形式为微球，单球扩增体系为25 μ L。包含冻干赋形剂、新型抗体修饰的Taq DNA聚合酶、UNG酶、PCR Buffer、dNTPs、Mg²⁺以及增强剂和稳定剂等。使用方便快捷，仅需加入相应的引物探针、提取后的核酸样本即可上机扩增。产品可以兼容单重与多重探针法qPCR反应体系。

本产品中引入了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。

保存条件： 常温保存

运输条件： 常温运输

常温条件下可保存12个月，如需更长时间，可置于2-8 $^{\circ}$ C条件下保存24个月。储存时保证铝箔袋处于真空状态。本产品打开八联排/西林瓶瓶盖后，应在1h内使用无核酸酶水进行复溶（具体操作见使用说明）。复溶后为PCR预混液，可在-20 $^{\circ}$ C储存，避免反复冻融。

产品内容

| Component | CW3381S 16rxns | CW3381M 48rxns |
|------------------------------|-------------------|-------------------|
| Lyo-easy Probe Mixture (UNG) | 16rxns | 48rxns |

注意事项

1. 本品在常温条件下至少可放置12个月，如需更长时间，可置于2-8℃条件下保存24个月，如复溶后未能用完可置于-20℃保存，避免反复冻融。
2. 本品为真空包装，开封后应尽快使用，避免长时间暴露于空气中。
3. 使用前请检查冻干微球外观，确保其形态完整、无明显萎缩或破损等。
4. 扩增体系配制完成后涡旋混匀，短暂离心去除气泡后上机检测。

使用说明

1. 八联排冻干微球PCR反应体系（适用于CW3381S）

| 试剂 | 25 μ L体系 | 终浓度 |
|------------------------------|------------------|---------------------------|
| Lyo-easy Probe Mixture (UNG) | 1粒 | |
| Forward Primer, 10 μ M | 0.5 μ L | 0.2 μ M ¹⁾ |
| Reverse Primer, 10 μ M | 0.5 μ L | 0.2 μ M |
| Probe | 0.5 μ L | 0.2 μ M ²⁾ |
| Template DNA ³⁾ | 5 μ L | |
| 无核酸酶水 | Up to 25 μ L | |

2. 西林瓶冻干微球PCR反应体系（适用于CW3381M）

请使用真空吸笔将微球按需转移至反应管/板内，请参考八联排冻干微球PCR反应体系（CW3381S）进行操作。

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。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) 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。通常DNA模板的量以10-100ng基因组DNA或1-10ng cDNA为参照，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 | 循环数 |
|-------|------|-------------------|------------|
| UNG消化 | 50°C | 2min | 1 |
| 预变性 | 95°C | 30s ¹⁾ | 1 |
| 变性 | 95°C | 10s | } 45cycles |
| 退火/延伸 | 60°C | 20s ²⁾ | |

注意:

1) 本产品所采用的酶在预变性95°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20s,可根据模板情况确定最佳的预变性时间。

2) 该阶段设置荧光信号采集。建议采用两步法PCR反应程序,退火温度请以58-64°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,退火温度请以56°C-64°C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、宏石和东胜等公司荧光定量PCR仪时请设定在20s。

使用ABI 7000/7300/7500时请设定在30s。

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。