



版本号：04/2024

SuperFast Probe One Step RT-qPCR U⁺ Kit

目录号：CW3327S (200rxns)

保存条件：-30℃ ~ -15℃保存，≤0℃运输。

产品内容

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

产品简介

SuperFast Probe One Step RT-qPCR U⁺ 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℃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⁺ 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⁺ 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	50μL体系	25μL体系	终浓度
5×SuperFast One Step RT-qPCR U ⁺ Buffer	10μL	5μL	1×
SuperFast One Step U ⁺ Enzyme	2μL	1μL	
Forward Primer, 10μM	1μL	0.5μL	0.2μM ¹⁾
Reverse Primer, 10μM	1μL	0.5μL	0.2μM
Probe ²⁾	0.5μL	0.25μL	0.1μM
Template RNA ³⁾	XμL	XμL	
RNase-Free Water	Up to 50μL	Up to 25μL	

- 注意：
- 1) 通常引物终浓度以0.2μM可以得到较好结果，可以在0.1-1.0μM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℃	1min	1
预变性	95℃	10s ¹⁾	1
变性	95℃	1 s	} 40-45
退火/延伸	55-60℃ ²⁾	10-15s ³⁾	

- 注意：
- 1) 本产品所采用的酶在预变性95℃，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℃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其他用途