

## Fast Multiplex Probe qPCR Mix

### 货号规格

| 货号              | P2741   | P2742    | P2743     | P2744     |
|-----------------|---------|----------|-----------|-----------|
| 25- $\mu$ l 反应数 | 80 rxns | 400 rxns | 4000 rxns | 8000 rxns |

### 产品简介

Fast Multiplex Probe qPCR Mix 是用于探针法多重实时定量 PCR 的 2X Master Mix，使用时只需加入模板、引物和探针即可进行反应。本品含有抗体技术修饰的快速热启动酶 Fast Hotstart Taq DNA 聚合酶，配合东盛特制的 PCR Buffer，能实现快速多重超高灵敏 qPCR。该试剂引入了 dUTP/UDG 防污染系统，可以在 PCR 反应前清除含 dUTP 的 PCR 产物，有效避免因扩增产物的交叉污染对定量的影响。本品方便用于搭配探针、引物实现全预混 Master Mix 分子诊断试剂盒。本品可搭配 TaqMan 等各类荧光探针使用，与常见定量 PCR 仪完美兼容，如 ABI、Roche、Bio-Rad 等。本产品可以免冰盒配制反应体系，可以直接于常温进行 PCR Mix、引物、模板等组分的配制，配制好的 PCR 反应体系可以常温放置 24 小时而保持扩增效率不变。

### 产品组成

| Component                        | P2741 | P2742           | P2743 | P2744  |
|----------------------------------|-------|-----------------|-------|--------|
| 2X Fast Multiplex Probe qPCR Mix | 1 ml  | 1 ml $\times$ 5 | 50 ml | 100 ml |

### 保存条件

-20℃保存 2 年，4℃可短期保存。

### 质量控制

纯度检测：经质量检测，产品不含脱氧核糖核酸内切酶、脱氧核糖核酸外切酶和核糖核酸酶污染。

功能检测：经不同来源的模板和引物检测，产品具有优秀的特异性、灵敏性及可重复性等。

### 应用举例

#### 1. 配制反应体系

参照下表配制反应体系：

| Component                                  | 25- $\mu$ l rxn | Final Conc.     |
|--|-----------------|-----------------|
| 2X Fast Multiplex Probe qPCR Mix           | 12.5 $\mu$ l    | 1X              |
| Forward primer (10 $\mu$ M) <sup>[1]</sup> | 0.5 $\mu$ l     | 0.2 $\mu$ M     |
| Reverse primer (10 $\mu$ M) <sup>[1]</sup> | 0.5 $\mu$ l     | 0.2 $\mu$ M     |
| Probe <sup>[2]</sup>                       | 1 $\mu$ l       | 0.1~0.5 $\mu$ M |
| DNA template                               | 2 $\mu$ l       | -               |
| 超纯水  | 8.5 $\mu$ l     | -               |
| Total volume                               | 25 $\mu$ l      | -               |

[1] 引物终浓度建议范围：0.1-1.0  $\mu$ M，通常引物终浓度为 0.2  $\mu$ M 效果较好。

[2] 使用探针的浓度与 Real Time PCR 扩增仪、探针种类和荧光标记物种类有关，使用时请参照相关说明。

通常探针终浓度在 0.1-0.5  $\mu$ M 之间。

注意：对于某些型号的仪器，需要添加 ROX 参比染料才能精确测定 Ct 值。由于 ROX 的使用体积较小，建议将 ROX 提前与 qPCR Mix 混匀使用。ROX 用量参照具体仪器说明。

#### 2. 设定反应程序进行 qPCR 反应

两步法程序示例如下：

| Stage                                | Temperature | Time   | Cycle |
|--------------------------------------|-------------|--------|-------|
| UDG pre-treatment                    | 37℃         | 2 min  | -     |
| Initial denaturation                 | 95℃         | 30 sec | -     |
| Denaturation                         | 95℃         | 5 sec  | 40    |
| Annealing & Extension <sup>[1]</sup> | 60℃         | 15 sec |       |

[1] 仪器在此阶段进行信号采集。请根据仪器类型设置反应时间。

#### 3. 分析结果

观察扩增曲线；调整基线，计算 Ct 值；进行相对或绝对定量。

### 注意事项

本品仅供科学研究使用。