

DSPath™ 5X Plus One-Step Multiplex Master Mix

货号规格

货号	V5005P	V5006P
20- μ l 反应数	200 rxns	5000 rxns

产品组成

Component	V5005P	V5006P
DSPath™ 5X Plus Multiplex Master Mix *	800 μ l	20 ml

*包含逆转录酶, RNase 抑制剂, 热敏 UDG 酶, 热启动 DNA 聚合酶, dNTPs (包含 dUTP), 以及缓冲液组分。

保存条件

-20°C

产品简介

DSPath™ 5X Plus One-Step Multiplex Master Mix 是一款专为超高灵敏度多重荧光定量 PCR 设计的一管式超浓缩预混液, 一步完成 RNA 样本的逆转录和 qPCR 检测。本品在延续原版 V5005 优秀的多重扩增缓冲体系与热敏 UDG 防污染系统的技术基础上, 将试剂浓度升级至 5X 极致浓缩状态, 可投入更大的模板体积, 提升低拷贝样本的检出率。本品配方经过深度优化, 具备极速扩增性能与超强样本耐受度。本品支持将引物和探针提前混入 5X 预混液中配制成工作液, 于 4°C/-20°C 可长期稳定保存, 实现极简的手工操作与高通量自动化液体处理。

应用举例

1. 准备反应体系

1.1 按下表配置反应体系。于冰上融化所有试剂。配制多个反应孔时, 请为各组分预留 10% 的余量, 以免移液损失。

组分	体积	终浓度
DSPath™ 5X Plus Multiplex Master Mix	4 μ l	1X
引物-探针	1 μ l	引物: 400-900 nM 探针: 100-250 nM
RNA 模板*	根据需要调整	1 pg-100 ng
RT-PCR 级超纯水	根据需要调整	-
总体积	20 μ l	

* DNA 或 RNA 样本均可, 逆转录反应并不会对 DNA 样本造成影响。

1.2 反应体系配好后, 用光学贴膜覆盖反应板, 充分翻转混匀, 离心。

2. 运行 RT-qPCR 反应程序

快速反应程序:

步骤	阶段	循环数	温度	时间
逆转录	1	1	55°C *	2 min
预变性	2	1	95°C	1 min
扩增	3	45	95°C	3 sec
			60°C	10 sec

标准反应程序:

步骤	阶段	循环数	温度	时间
逆转录	1	1	55°C *	15 min
预变性	2	1	95°C	1 min
扩增	3	45	95°C	15 sec
			60°C	30 sec

* 逆转录反应的温度可以在 48°C至 55°C之间进行调整。

3. 实验数据分析

针对不同的仪器类型, 数据分析也略有不同。一般情况下, 数据分析主要包括:

1. 观察扩增曲线, 根据需要进行设置, 比如:

a. 设置合适的基线和阈值线

b. 将一些典型的异常值从分析中剔除掉

2. 在孔位表或者结果表中, 观察复孔之间的 Ct 值是否有差异;

3. 对于绝对定量, 观察标准曲线的斜率、扩增效率、 R^2 值、截距、Ct 值和异常值。

本品仅供科学研究使用。