

NovoStart® High-Specificity Probe qPCR SuperMix (UDG, for-Lyo)

目录号: FLE406

01/ 产品描述

NovoStart® High-Specificity Probe qPCR SuperMix (UDG, for-Lyo)是一款采用 TaqMan 探针法进行 Real-Time qPCR 的试剂, 是将 HotStart Taq DNA 聚合酶、UDG 酶、dNTPs (含 dUTP)、精心优化的反应 Buffer、保护剂及赋形剂等试剂制成的试剂盒, 进行实验时, PCR 反应液的配制简单方便。经特殊工艺处理后的 HotStart Taq DNA 聚合酶可以有效减少由引物的非特异性退火或引物二聚体引起的非特异性扩增。结合精心优化的反应缓冲液, 具有很高的特异性和灵敏度。

本制品包含无甘油的 2×Mix、冻干保护剂及赋形剂, 可直接用于冻干样品的制备, 以提高样品的稳定性和易用性。

02/ 产品特点

- 1) 该产品可用于制作冻干粉或冻干小球, 可添加引物探针进行冻干;
- 2) 高特异性: 采用特殊工艺制备的 HotStart Taq DNA 聚合酶, 结合精心优化的反应缓冲液, 大大提高 PCR 扩增的特异性;
- 3) 高效: Novoprotein 精心配制的 Real-Time qPCR 专用 2×SuperMix, 具有更高的扩增效率和扩增灵敏度;
- 4) 快捷: PCR 反应所必需试剂集于一管之中, 数分钟即可完成反应体系配制。

03/ 质量控制

所有组分经检测均无核酸内切酶残留、核酸外切酶残留。

04/ 保存温度

-20°C±5°C。

05/ 产品包装

产品组成	FLE406-M001 100rxns (20µl/rxns)	FLE406-M005 500rxns (20µl/rxns)
2×High-Specificity Probe qPCR SuperMix (UDG, Glycerol-Free)	1ml	5ml
4×Lyoprotectant Buffer	500µl	2.5ml

06/ 操作说明

1. 冻干前样品检测

若需要在冻干前进行样品检测, 可根据以下体系进行, 常用反应体系 (20µl):

- 1) 使用 2×High-Specificity Probe qPCR SuperMix (UDG, Glycerol-Free), 不使用 4×Lyoprotectant Buffer 进行检测验证:

组分	体积
2×High-Specificity Probe qPCR SuperMix (UDG, Glycerol-Free)	10µl
上游引物 (10µM)	0.2-1.0µM (终浓度)
下游引物 (10µM)	0.2-1.0µM (终浓度)
探针 (10µM)	0.05-0.5µM (终浓度)
模板	Xµl
RNase Free Water	To 20µl

- 2) 使用 2×High-Specificity Probe qPCR SuperMix (UDG, Glycerol-Free), 使用 4×Lyoprotectant Buffer 进行检测验证:

组分	体积
2×High-Specificity Probe qPCR SuperMix (UDG, Glycerol-Free)	10µl
4×Lyoprotectant Buffer	5µl
上游引物 (10µM)	0.2-1.0µM (终浓度)
下游引物 (10µM)	0.2-1.0µM (终浓度)
探针 (10µM)	0.05-0.5µM (终浓度)
模板	Xµl
RNase Free Water	To 20µl

2. 冻干小球体系制备

- 1) 根据以下常用体系（20μl）进行冻干小球体系配制：

组分	体积
2×High-Specificity Probe qPCR SuperMix (UDG, Glycerol-Free)	10μl
4×Lyoprotectant Buffer	5μl
上游引物 (10μM)	0.2-1.0μM（终浓度）
下游引物 (10μM)	0.2-1.0μM（终浓度）
探针 (10μM)	0.05-0.5μM（终浓度）
RNase Free Water	To 20μl

- 2) 将上述冻干微球进行冻干，推荐冻干程序如下：

步骤	温度 (°C)	斜率时间 (min)	持续时间 (min)	真空度 (Pa)	备注
进仓	-45	/	60	/	需保证箱体温度下降至-45°C才可放入
预冻	-45	60 ⁽¹⁾	240 ⁽²⁾	/	(1) 预冻斜率时间进行快速率降温； (2) 持续时间根据包材、体积数量进行调整；
一次升华	-45	120 ⁽³⁾	600 ⁽⁴⁾	10	(3) 斜率时间根据冻干机升降温速率及一次升华温度进行调整； (4) 持续时间根据包材、体积数量进行调整；
解析干燥	0	120 ⁽⁵⁾	60 ⁽⁶⁾	10	(5) 斜率时间根据冻干机升降温速率及一次升华温度进行调整； (6) 持续时间根据包材、体积数量进行调整；
	25	120 ⁽⁷⁾	240 ⁽⁸⁾	0	(7) 斜率时间根据冻干机升降温速率及一次升华温度进行调整； (8) 持续时间根据包材、体积数量进行调整。

注：

- ① 不同厂家或不同型号冻干机均会存在差异，请根据冻干机性能优化程序；
- ② 若冻干机无斜率控制，请将升温过程分阶段进行；
- ③ 此推荐程序为西林瓶耗材（50 瓶以内）冻干程序，若冻干体积更大或数量更多，需对冻干程序调整；
- ④ 冻干后建议使用高纯氮气进行填充。

- 3) 使用(20-X)μl RNase Free Water 复溶冻干微球，加入 Xμl 模板进行反应，反应时总体积为 20μl，即：

组分	体积
冻干微球	1 颗
加入 (20-X) μl 的 RNase Free Water 混匀复溶	
模板	Xμl
总体积	20μl

3. 推荐 PCR 反应程序

反应阶段	循环数	温度	时间
污染消化	1	37°C	2min
预变性	1	95°C	5min
变性	40-45	95°C	10s
退火/延伸		60°C	30s

07/ 注意事项

- 1) 使用前务必充分混匀，避免剧烈震荡产生过多气泡。
- 2) qPCR 灵敏度高，建议将模板进行稀释使用，控制 Ct 值在 20-35 之间适宜。
- 3) 本产品中已含有冻干辅料，若需增加其他冻干辅料，需根据实际检测数据评估后增加。
- 4) 复溶后产品使用若有剩余，请将本制品置于-20°C±5°C储存，尽量避免反复冻融，影响产品使用。