



Lyophilized WinScript One Step RT-qPCR U⁺ Mixture

目录号：CW3361S (48 rxns)

CW3361M (100 rxns)

保存条件：4-30°C保存，复溶后未使用完毕可存放于-20°C，尽量避免反复冻融。

产品内容

Component	CW3361S 48 rxns	CW3361M 100 rxns
Lyophilized WinScript One Step RT-qPCR U ⁺ Mixture	6×八联排	1×西林瓶

产品简介

本产品是适用于探针法（TaqMan，Molecular Beacon等）检测RNA病毒的专用原位全组分冻干试剂。包含新型抗体修饰的Taq DNA聚合酶、高效热稳定逆转录酶、以及增强剂和稳定剂。本试剂盒中引入了dUTP/UNG防污染系统，在室温下即可将含U的污染物迅速降解。本产品使用方便快捷，仅需加入引物探针，提取后核酸样本即可上机扩增。该产品可以兼容单重与多重探针法qPCR反应体系。

注意事项

本产品长期保存可置于4-30°C，更长时间储存可置于-20°C。如复溶后未能用完可置于-20°C保存，避免反复冻融。

使用方法

以下举例为常规的反应体系和反应条件，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小的不同进行相应的改进和优化。

1. 根据以下表格配制八联排反应体系，总体积为25 μ L。

试剂	25 μ L反应体系	终浓度
Lyophilized WinScript One Step RT-qPCR U ⁺ Mixture	1 孔	1 \times
引物探针mix ¹⁾	X μ L	
RNA Template ²⁾	X μ L	
RNase-Free Water	up to 25 μ L	

2. 根据以下表格配制西林瓶反应体系，总体积为25 μ L。

西林瓶中加入1.3mL RNase-Free Water复溶，涡旋混匀10s，短暂离心备用。

试剂	25 μ L反应体系	终浓度
复溶后的Lyophilized WinScript One Step RT-qPCR U ⁺ Mixture	12.5 μ L	1 \times
引物探针mix ¹⁾	X μ L	
RNA Template ²⁾	X μ L	
RNase-Free Water	up to 25 μ L	

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。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。

2) 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。

3. 混匀，短暂离心，将溶液收集到管底。

4. RT-qPCR反应条件：

步骤	温度	时间	循环
逆转录	55 $^{\circ}$ C	5 min	1
预变性	95 $^{\circ}$ C	30 s	1
变性	95 $^{\circ}$ C	10 s	} 45
退火延伸，收集荧光	58 $^{\circ}$ C	30 s	

注意：建议采用两步法PCR反应程序，若因使用Tm值较低的引物等原因，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 $^{\circ}$ C-64 $^{\circ}$ C的范围作为设定参考。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及任何其他用途