货号：FMD5084-000903-DB

5×Fast Direct RT Premix-UNG (Probe qRT-PCR) (DG) (000903)

2026V01

产品概述

Fast Direct RT Premix-UNG (Probe qRT-PCR) (DG) (000903)是专为冻干工艺开发的，进行靶基因荧光定量(TaqMan 探针法) RNA 扩增检测的扩增试剂，本试剂采用抗抑制扩增酶与 UNG 酶的混合酶，具有很强的抑制物耐受性，以及含有 dUTP 的优化 Buffer 体系，不但能够实现含抑制物样品中目的基因的良好扩增，而且可以有效防止 PCR 产物残留、气溶胶污染所带来的假阳性反应。本试剂冻干后具有良好的冻干形态及产品稳定性。

试剂组成

1. 25×Fast Direct RTase/UNG Mix (DG) (000903)
2. 5×Fast Direct RT Premix Buffer (dUTP) (DG) (020303)
3. 4×冻干保护剂（选配）

保存条件

-20±5℃存储；使用前应混匀，避免反复冻融。

反应条件

普通 PCR 程序			
步骤	**温度**	**时长**	**循环数**
逆转录	50℃	10~20 min	1
变性	95℃	1~5 min	1
变性	95℃	10~20 s	40~50
退火延伸	56~64℃	20~60 s	

*本品所含温敏型 TS-UNG (DG)酶在室温下即可发挥功能，在逆转录过程失活。

qRT-PCR 液体反应体系配制

试剂	25 μL 体系	50 μL 体系	终浓度
25×Fast Direct RTase/UNG Mix (DG) (000903)	1 μL	2 μL	1×
5×Fast Direct RT Premix Buffer (dUTP) (DG) (020303)	5 μL	10μL	1×
4×冻干保护剂 [1]	6.25 μL	12.5 μL	1×
25×Primer-Probe Mix [2]	1 μL	2 μL	1×
Template RNA [3]	——	——	——
ddH_2O	To 25 μL	To 50 μL	——

1. 此体系为可冻干体系，当客户使用此体系无冻干需求时，4×冻干保护剂可以选择性加入；如若有冻干产品需要，在液体试剂阶段进行产品性能验证时，必需加入 4×冻干保护剂，以保证与冻干后体系组分及效果一致。
2. 使用 PCR 程序扩增时，通常引物终浓度为 0.2 μM 可以得到较好结果；反应性能较差时，可以在 0.2～1 μM 范围内调整引物浓度。通常探针浓度在 0.1～0.3 μM 范围内优化。可进行浓度梯度的实验，寻找引物和探针的最佳组合。
3. 不同种类的 RNA 模板中含有的靶基因的拷贝数不同，必要时可进行梯度稀释，确定最佳的 RNA 模板添加量。

体系用于冻干时，冻干体系配制

试剂	25 μL 体系
25×Fast Direct RTaset/UNG Mix (DG) (000903)	1 μL
5×Fast Direct RT Premix Buffer (dUTP) (DG) (020303)	5 μL
4×冻干保护剂	6.25 μL
25×Primer-Probe Mix	1 μL
ddH_2O	To 25 μL

***如需其他体系冻干配制，请另询。**

冻干条件

步骤	温度	时长	状态	压强
预冻	4°C	30 min	Hold	1 atm
	-50°C	60 min	降温	
	-50°C	180 min	Hold	
一次升华	-30°C	60 min	升温	极限真空
	-30°C	720 min	Hold	
二次升华	25°C	60 min	升温	极限真空
	25°C	300 min	Hold	

1. 此冻干工艺为 **25 μL 体系**原位冻干工艺，如需进行冻干珠的冻干或其他体系原位冻干，请另询。
2. 以上冻干工艺仅作参考。产品类型不同、使用不同的冻干机，冻干参数有差异，使用过程中可根据实际对工艺进行调整。
3. 不同的冻干工艺有可能适用于不同的冻干批量，用于大批量生产时务必进行充分的测试验证。

冻干粉使用方法

1. 将冻干粉进行瞬时离心；
2. 向冻干粉中加入模板，并加适量水补足至 25 μL；
3. 混匀离心，上机。

*推荐使用宝泰仪公司混匀离心一体机 CM-8 或 CM-8 Plus 进行标准化的离心混匀操作。

质量控制

1. 功能检测：qRT-PCR 的敏感性、特异性、可重复性。
2. 无外源核酸酶活性，无外源内切、外切核酸酶污染。

技术说明

1. 如出现荧光值过低或扩增抑制现象明显等问题，建议减少加样量或对样品稀释后再加样。
2. 对于退火温度较低的引物或超过 200bp 长片段扩增建议采用三步法。
3. 不同待扩增基因对 dUTP 的利用效率和对 UNG 酶的敏感度不同，因此，如果采用 UNG 体系导致检测灵敏度下降，应对反应体系进行调整优化，如需技术支持请与我公司联系。
4. 扩增前后请使用专用的区域和移液器，戴手套操作并经常更换；PCR 反应完成后切勿打开反应管，以最大限度地减少 PCR 产物对样品的污染。