货号：M2274-073702

2×Neoscript RT Premix OT-UNG (Probe qRT-PCR) (073702)

2026V01

产品概述

Neoscript RT Premix OT-UNG (Probe qRT-PCR) (073702)是一步法（One Step）RT-PCR 荧光定量探针法定性、定量反应的专用试剂。本产品采用定向改造的高亲和力抗体修饰 DNA 扩增酶、温启动逆转录酶，经过 Buffer 的深度优化，实现了酶、buffer 和引物探针全预混、低温长期存储稳定的效果，提高了终端产品使用便捷性。试剂中引入了 dUTP/UNG 防污染系统，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，保证结果的准确性。

试剂组成

2×Neoscript RT Premix OT-UNG (Probe qRT-PCR) (073702)

*本试剂已含有快速扩增 DNA 聚合酶、RTase、TS-UNG、PCR Buffer、$MgCl_2$、dNTPs、稳定剂等成分。

保存条件

-20℃±5℃存储；使用前应混匀，避免反复冻融。

本品冷藏后如若出现沉淀，属于正常现象；建议平衡至室温后再混匀使用。

qRT-PCR 反应体系配制

试 剂	25 μL 体系	50 μL 体系	终浓度
2×Neoscript RT Premix OT-UNG (Probe qRT-PCR) (073702)	12.5 μL	25 μL	1×
25×Primer-Probe Mix [1]	1 μL	2 μL	1×
Template RNA [2]	——	——	——
ddH_2O	To 25 μL	To 50 μL	——

1. 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。
2. 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。

反应条件

PCR 程序			
步骤	温度	时长	循环数
逆转录	50℃	5~10 min	1
变性	95℃	30s~1 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 酶在室温下即可发挥功能，在逆转录过程失活。

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. 该体系含 TS-UNG 酶，能够在室温或 25°C条件下降解含尿嘧啶的 DNA 模板，并在逆转录过程被灭活，从而不影响后续以 cDNA 为模板的 PCR 扩增。
2. 该体系常用 50°C进行反转录反应，可以在 42°C~55°C范围内进行反转录温度优化；根据反应特征不同，可以在 5~30 min 内对反转录时间进行优化。
3. 该体系所用的**新型逆转录酶**是在 M-MLV 基础上进行了基因改造，使其具有更高的温度耐受性和反转录温度，对 RNA 复杂结构模板具有更高的反转录效率。
4. 该体系具有良好的体系稳定性和适用性，非常适合于病毒类、组织提取 RNA 复杂模板的检测；对极低浓度模板的扩增效果更加稳定，适合于高灵敏度分子诊断试剂使用。
5. 对于退火温度较低的引物或超过 200 bp 长片段扩增建议采用三步法。
6. 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。
7. 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。