货号：PFM2181-4-020303-V20

FastAmpli Premix-UNG IV (Probe qPCR) (020303) (PF-V20)

2026V01

产品概述

FastAmpli Premix-UNG IV (Probe qPCR) (020303) (PF-V20)是预分装的、冻干粉状态的、采用探针法进行 Real Time PCR 定性、定量反应的专用试剂。含有经基因改造筛选得来的可快速扩增的 DNA 聚合酶，能在 30 min 内完成整个 PCR 反应。本品经 Buffer 体系的配套优化，适用于多重扩增。本试剂采用抗抑制扩增酶与 UNG 酶的混合酶，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。本制品在常温状态下具有良好的稳定性，可常温运输、储存。

试剂组成

FastAmpli Premix-UNG IV (Probe qPCR) (020303) (PF-V20)

*本试剂已含有快速扩增 DNA 聚合酶、UNG、PCR Buffer、$MgCl_2$、dNTPs、稳定剂和冻干保护剂等成分。

保存条件

冻干试剂请于阴凉干燥处或 2-8℃保存。

冻干粉使用方法

（一）将冻干粉进行瞬时离心；

（二）打开盖子，向冻干粉中加入模板、引物和探针，并加水补足至 20 μL，配制如下：

试剂	20 μL 体系	终浓度
FastAmpli Premix-UNG IV (Probe qPCR) (020303) (PF-V20)	——	1×
25×Primer-Probe Mix[1,2]	0.8 μL	1×
Template DNA[3]	——	——
ddH_2O	To 20 μL	——

1. 使用普通 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。
2. 使用快速 PCR 程序扩增时，适当提高引物探针浓度有可能获得更好的扩增结果，引物探针比例应进行配比优化。
3. 不同种类的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，确定最佳的模板添加量。

（三）盖上管盖，混匀离心，上机。

反应条件

普通 PCR 程序			
步骤	温度	时长	循环数
消化	50℃	2 min	1
热启动	95℃	1~5 min	1
变性	95℃	10~20 s	40~50
退火延伸	56~64℃	20~60 s	

快速 PCR 程序			
步骤	温度	时长	循环数
消化	50℃	2 min	1
热启动	95℃	30 s	1
变性	95℃	1~3 s	40~45
退火延伸	56~64℃	3~20 s	

质量控制

1. 功能检测：qPCR 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. 本品所含 DNA 聚合酶的扩增速率不低于 1 kb/10 s。不同快速 PCR 仪其升降温速率、控温模式、导热效率差异较大，建议结合具体快速 PCR 仪，进行其最适反应条件的优化。
2. 具有更高的特异性，能够显著提升荧光定量 PCR 极限检测的灵敏度，使极低浓度模板的扩增曲线归一性、荧光值获得明显改善，适合用作高灵敏度荧光定量 PCR 检测试剂。
3. 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。
4. 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。
5. 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。