货号：FM8254-T1

8×Neoscript RT Premix Multi-UNG (Probe qRT-PCR) (DG) (T1)

2026V01

产品概述

Neoscript RT Premix Multi-UNG (Probe qRT-PCR) (DG) (T1)是专为冻干工艺开发的、适用于多重扩增的、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，反应过程在同一管内连续进行，避免开管，能有效防止污染。本品含有去除 RNase H 活性的高温反转录酶 Neoscript RTase (DG)、经基因工程改造而来的热启动 Taq 酶和 TS-UNG (DG)酶，采用优化配方的 PCR 专用 Buffer 和 UNG/dUTP 防污染系统，具有更高的反转录效率和 PCR 扩增效率，适合于低浓度 RNA 模板的高灵敏度扩增，并能够有效防止 PCR 产物残留、气溶胶污染造成的假阳性扩增。本试剂可以在较宽的定量区域内得到良好的标准曲线，准确进行定量，并与多数厂家的荧光定量 PCR 仪兼容，如 Applied Biosystems、Eppendorf、Bio-Rad 和 Roche 等。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. 20×Neoscript RTase/UNG Multi Mix (DG) (T1)
2. 8×Neoscript RT Premix Multi Buffer (dUTP) (Mg^{2+} free) (DG)
3. 360 mM $MgCl_2$
4. 4×冻干保护剂（选配）

保存条件

-20±5°C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°C	10～20	1
变性	95°C	1~5 min	1
变性	95°C	10~20 s	40~50
退火延伸	56~64°C	20~60 s	

快速 PCR 程序			
步骤	温度	时长	循环数
逆转录	50°C	5 min	1
变性	95°C	30 s	1
变性	95°C	1~3 s	40~45
退火延伸	56~64°C	3~20 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
8×Neoscript RT Premix Multi Buffer (dUTP) (Mg^{2+} free) (DG)	3.125 μL	6.25 μL	1×
20×Neoscript RTase/UNG Multi Mix (DG) (T1)	1.25 μL	2.5 μL	1×
360 mM $MgCl_2$	0.417 μL	0.833 μL	6 mM
4×冻干保护剂 [1]	6.25 μL	12.5 μL	1×
25×Primer-Probe Mix [2,3]	1 μL	2 μL	1×
Template RNA [4]	——	——	——
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。

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.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。

4.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。

体系用于冻干时，冻干体系配制

试剂	25 μL 体系
8×Neoscript RT Premix Multi Buffer (dUTP) (Mg^{2+} free) (DG)	3.125 μL
20×Neoscript RTase/UNG Multi Mix (DG) (T1)	1.25 μL
360 mM $MgCl_2$	0.417 μL
4×冻干保护剂	6.25 μL
25×Primer-Probe Mix	1 μL
ddH_2O	To 18~20 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	

4. 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。
5. 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。
6. 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. 向冻干粉中加入核酸模板，并加水补足至 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. 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。
2. 该体系所用 Neoscript RTase (DG)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。
3. 该体系具有更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；对极限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。
4. 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。
5. 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。
6. 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。