货号：M3291

3×SensiMelt Multiplex Premix-UNG (Probe qPCR)

2025V02

产品概述

SensiMelt Multiplex Premix-UNG (Probe qPCR)是一款基于非对称 PCR 扩增技术定向开发的探针法熔解曲线专用试剂。含有常温下 DNA 聚合酶活性被封闭、无 5'-3'外切酶活性的定向优化热启动酶，通过 Buffer 的深度优化，显著提升了该产品超多重扩增后的熔曲峰值、扩增的均一性和特异性以及对 GC 含量的宽兼容性。同时，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，是一款适用于超多重探针法熔解曲线平台的 qPCR 试剂。

试剂组成

1. 20×SensiMelt Multiplex Enzyme/UNG Mix
2. 3×SensiMelt Multiplex Buffer (Mg^{2+} free)
3. 250mM $MgCl_2$
4. 10mM dNTP Mix (dUTP)

保存条件

-20±5°C存储；使用前应混匀，避免反复冻融。

qPCR 反应体系配制

试 剂	25 μL 体系	50 μL 体系	终浓度
20×SensiMelt Mutiplex Enzyme/UNG Mix	1.25 μL	2.5 μL	1×
3×SensiMelt Mutiplex Buffer (Mg^{2+} free)	8.33 μL	16.67 μL	1×
250mM $MgCl_2$[1]	0.2-0.5 μL	0.4-1 μL	2-5mM
10mM dNTP Mix (dUTP)[1]	0.5-0.75 μL	1-1.5 μL	0.2-0.3mM
25×Primer-Probe Mix[2]	1 μL	2 μL	1×
Sample[3]	——	——	——
ddH_2O	To 25 μL	To 50 μL	——

1. 可依据扩增重数进行添加量调整，建议将 $MgCl_2$ 以 0.5mM 为梯度上下调节用量。

2、一般来说在非对称 PCR 反应体系中，上下游引物比例为 1 : 3 - 1 : 10，终浓度为 0.05 - 0.5 μM 即可得到较好的扩增效果。当扩增性能比较差时，可以在终浓度 0.1 - 1.0 μM 范围内调整引物浓度。水解探针终浓度需大于限制性引物终浓度，可以在 0.2 - 0.3 μM 之间调整。

3、不同种类的 DNA 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 DNA 模板添加量。

反应条件

步骤	温度	时长	循环数
消化	50°C	2 min	1
热启动	95°C	30 s~1 min	1
变性	95°C	10~20 s	40~50
退火	52~64°C	20~60 s	
延伸	72°C	20~30 s	
熔解阶段	95°C	1min	1
	35°C	2min	1
	35-90°C		0.05°C/s，连续采集荧光

货号：M3291

3×SensiMelt Multiplex Premix-UNG (Probe qPCR)

2025V02

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. SensiMelt Multiplex Premix-UNG (Probe qPCR) 采用 30s~1min 热启动；适合进行多重探针法熔解曲线反应。
2. 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。
3. 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。