

2X 预混型探针法qPCR试剂盒 (适用于非洲猪瘟病毒检测, 含UNG, 不含引物探针)

2X Premix Probe qPCR Kit for ASFV (UNG Plus, Primer Free)

Code No. AG11731

包装量: 400 rxns / 25 μ l
保存温度: -20 $^{\circ}$ C

➤ 产品概述

本产品是适用于探针法非洲猪瘟病毒 (ASFV) 检测的专用试剂, 是一种 2X Premix 预混液, 只需加入引物、探针、模板和水即可进行反应, 操作非常简单。

本产品采用了反应性能优越的 *Accurate Taq* HS DNA 聚合酶, 配合精心优化的 Buffer, 可以进行高效稳定的 qPCR 扩增, 非常适合非洲猪瘟等 DNA 病毒检测。

本产品中引入了 dUTP/UNG 防污染系统, 在 PCR 反应过程中以 dUTP 取代 dTTP, 利用 UNG 酶能选择性水解含 dU 的 DNA 链, 而对不含 dU 的 DNA 链没有任何影响的特性, 除去 PCR 反应体系配制过程中引入的含 dU 的污染模板, 从而可有效防止 PCR 假阳性结果的产生; 同时, 本产品中还添加了在常温状态下能够有效抑制 DNA Polymerase 活性的单克隆抗体, 能够有效抑制非特异性扩增, 提高反应灵敏度, 提升结果准确性。

➤ 保存及运输

保存温度: -20 $^{\circ}$ C保存

运输温度: 干冰运输或-20 $^{\circ}$ C冰袋运输

➤ 产品组成

2X Probe Premix for ASFV (UNG Plus)*	1 ml X 5 pcs
--------------------------------------	--------------

*: 溶液在-20 $^{\circ}$ C存放时可能会产生沉淀, 使用前可于冰上溶解或手握溶解, 颠倒混匀至沉淀全部消失。请勿涡旋振荡。

➤ 实验操作

(以ABI QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Systems为例)

反应体系 (25 μ l) ^{*1}

组分名称	反应终浓度	加入量
2X Probe Premix for ASFV (UNG Plus) ^{*2}	1X	12.5 μ l
Primer F (50 μ M)	0.2 μ M ^{*3}	0.1 μ l
Primer R (50 μ M)	0.2 μ M ^{*3}	0.1 μ l
Probe (50 μ M)	0.4 μ M ^{*4}	0.2 μ l
ROX Reference Dye (4 μ M) ^{*5}	0.08 μ M	0.5 μ l
Template	\leq 100 ng ^{*6}	-
RNase free water	-	Up to 25 μ l

- *1: 请按照不同仪器推荐反应体系配制反应液。
- *2: 该溶液要避免反复冻融, 防止酶活降低; 使用前可上下颠倒混匀或用移液器吸打混匀, 请勿涡旋振荡混匀。
- *3: 引物通常使用终浓度为 $0.2 \mu\text{M}$, 也可以在 $0.1 \sim 1.0 \mu\text{M}$ 范围内调整。
- *4: 探针浓度与使用的定量 PCR 仪、荧光标记物质种类有关, 请参照仪器说明书及荧光探针的具体使用要求调整。探针通常使用终浓度为 $0.4 \mu\text{M}$, 可在 $0.1 \sim 0.8 \mu\text{M}$ 范围内进行调整。
- *5: 如果需要使用 ROX 进行荧光信号校准, 请按照仪器推荐量添加。若不需要使用 ROX 进行荧光信号校准, ROX Reference Dye 可使用 RNase free water 代替。
- *6: 在 $25 \mu\text{l}$ 体系里, 模板添加量通常不高于 100ng 。必要时可以进行梯度稀释, 以确定合适的模板添加量。

qPCR反应条件^{*1, *2} (两步法反应程序)

步骤	温度	时间	循环数
UNG处理	25°C^3	10 min^3	1
预变性	95°C	30 sec^4	1
变性	95°C	5 sec	45
退火和延伸	60°C^45	30 sec^5	

- *1: 建议首先采用两步法 PCR 反应程序, 如果得不到良好的实验结果时再优化反应条件。
- *2: 如果引物 T_m 值较低, 导致两步法扩增效率较差, 可采用三步法进行 PCR 扩增 (三步法 PCR 反应程序可参考附录)。

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.

- *3: 建议在 25°C , 10 min 条件下进行 UNG 处理, 能够充分降解含 dU 的污染模板; 可根据实际需求在 $5 \sim 10 \text{ min}$ 范围内调整处理时间。
- *4: 预变性时间通常设定为 30 sec, 如果模板变性困难, 可以延长预变性时间至 $30 \text{ sec} \sim 5 \text{ min}$ 。
- *5: 通常情况下 PCR 扩增产物设计在 300 bp 以下, 扩增退火和延伸反应条件设定为 60°C 、30 sec 时可以满足要求; 如需提高反应特异性, 可适当提高退火和延伸温度; 如需提高扩增效率, 或者 PCR 扩增产物较长, 则可将退火和延伸时间适当延长, 同时也可尝试进行三步法 PCR 扩增 (三步法 PCR 反应程序可参考附录)。

➤ 结果检测

反应结束后, 确认扩增曲线, 并进行标准曲线分析。
(分析方法请参照仪器操作手册)

➤ 附录: 三步法 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
UNG处理	25°C	10 min	1
预变性	95°C	30 sec	1
变性	95°C	5 sec	45
退火	55°C	30 sec	
延伸	72°C	30 sec	