

## DSP<sup>TM</sup> 4X One-Step Multiplex Master Mix

货号: V5005, V5006

### 产品组成

| Component                                   | V5005 (200 rxns, 20 $\mu$ l/rxn) | V5006 (5000 rxns, 20 $\mu$ l/rxn) |
|---|----------------------------------|-----------------------------------|
| DSP <sup>TM</sup> 4X Multiplex Master Mix * | 1 ml $\times$ 1                  | 25 ml $\times$ 1                  |

\*包含逆转录酶, RNase 抑制剂, 热敏 UDG 酶, 热启动 DNA 聚合酶, dNTPs 包含 dUTP, 以及缓冲液组分。

### 保存条件

 -15~-25 $^{\circ}$ C

### 产品简介

DSP<sup>TM</sup> 4X One-Step Multiplex Master Mix 是用于一步法多重荧光定量 PCR 的试剂。它以探针和特异性引物来定量检测 RNA 或 DNA 靶标序列。优化的缓冲液组分可以协助在一个体系内完成多达 4 个 RNA 或 DNA 序列的多重定量 PCR。该混合液以 4 倍浓度提供, 能够加入更多的模板进行反应, 从而提高检测的灵敏度。

### 应用举例

#### 1. 准备反应体系

1.1 按下表配置反应体系。于冰上融化所有试剂。配制多个反应孔时, 请为各组分预留 10% 的余量, 以免移液损失。

1.2 反应体系配好后, 用光学贴膜覆盖反应板, 充分翻转混匀, 离心。

快速反应体系:

| 组分  | 体积         | 终浓度                              |
|---|------------|----------------------------------|
| DSP <sup>TM</sup> 4X Multiplex Master Mix | 5 $\mu$ l  | 1X                               |
| 引物-探针                                     | 1 $\mu$ l  | 引物: 400-900 nM<br>探针: 100-250 nM |
| 样品*                                       | 根据需要调整     | 1 pg-100 ng                      |
| RT-PCR 级超纯水                               | 根据需要调整     | -                                |
| 总体积                                       | 20 $\mu$ l |                                  |

标准反应体系:

| 组分  | 体积           | 终浓度                              |
|---|--------------|----------------------------------|
| DSP <sup>TM</sup> 4X Multiplex Master Mix | 12.5 $\mu$ l | 1X                               |
| 引物-探针                                     | 2.5 $\mu$ l  | 引物: 400-900 nM<br>探针: 100-250 nM |

|             |            |             |
|-------------|------------|-------------|
| 样品*         | 根据需要调整     | 1 pg-100 ng |
| RT-PCR 级超纯水 | 根据需要调整     | -           |
| 总体积         | 50 $\mu$ l |             |

\* DNA 或 RNA 样本均可, 逆转录反应并不会对 DNA 样本造成影响。

### 2. 运行 RT-qPCR 反应程序

快速反应体系:

| 步骤  | 阶段 | 循环数 | 温度                | 时间     |
|-----|----|-----|-------------------|--------|
| 逆转录 | 1  | 1   | 55 $^{\circ}$ C * | 10 min |
| 预变性 | 2  | 1   | 95 $^{\circ}$ C   | 2 min  |
| 扩增  | 3  | 45  | 95 $^{\circ}$ C   | 3 sec  |
|     |    |     | 60 $^{\circ}$ C   | 30 sec |

标准反应体系:

| 步骤  | 阶段 | 循环数 | 温度                | 时间     |
|-----|----|-----|-------------------|--------|
| 逆转录 | 1  | 1   | 55 $^{\circ}$ C * | 10 min |
| 预变性 | 2  | 1   | 95 $^{\circ}$ C   | 2 min  |
| 扩增  | 3  | 45  | 95 $^{\circ}$ C   | 15 sec |
|     |    |     | 60 $^{\circ}$ C   | 60 sec |

\* 逆转录反应的温度可以在 48 $^{\circ}$ C 至 55 $^{\circ}$ C 之间进行调整。

### 3. 实验数据分析

针对不同的仪器类型, 数据分析也略有不同。一般情况下, 数据分析主要包括:

- 观察扩增曲线, 根据需要进行设置, 比如:
  - 设置合适的基线和阈值线
  - 将一些典型的异常值从分析中剔除掉
- 在孔位表或者结果表中, 观察复孔之间的 Ct 值是否有差异;
- 对于绝对定量, 观察标准曲线的斜率、扩增效率、R<sup>2</sup> 值、截距、Ct 值和异常值。

本品仅供科学研究使用。