

## 【产品简介】

TOROIVD® 5G qPCR Premix with UNG-WS-是一款高灵敏度的 2×qPCR 预混液，可使用 Taqman 探针法对低至 2-3copies/反应的病毒进行稳定检测。该预混液包括 TOROIVD® 5G DNA 聚合酶、热敏 UNG 酶、dNTPs/dUTP 和反应缓冲液。聚合酶的改造及反应配方的优化使得本预混液非常稳定，37℃热加速 1 个月性能不变。含有 dUTP/UNG 防污染系统，可有效清除 PCR 产物，从而降低检测假阳性风险。

## 【产品特征】

1. 高灵敏度：配合调优引物探针组合可对 2-3 copies/反应的病毒进行稳定检测。
2. 高稳定性：无需干冰运输及冰上操作，37℃热加速 1 个月性能不变。
3. 高特异性：含有 dUTP/UNG 防污染系统，无需担心 PCR 扩增产物污染。
4. 高兼容性：兼容所有仪器，仅需一个反应条件，可同板内检测不同项目。
5. 高性价比：创新规模化生产工艺，大大降低检测成本。

## 【产品组成】

TOROIVD® 5G qPCR Premix with UNG-WS- (QPT-200U-WS) 采用 20μL 反应体系可使用 500 次。

| 货号          | 品名                                   | 规格        | 数量    |
|-------------|--------------------------------------|-----------|-------|
| QPT-200U-WS | TOROIVD® 5G qPCR Premix with UNG-WS- | 1.25 ml/管 | 4 管/包 |

### 备注:

1. 试剂盒于-20℃长期保存，在 2℃-8℃可保存 1 年，使用前请完全融化，并轻柔混匀离心后使用。

## 【使用方法】

### DNA 检测反应体系配制:

1. 试剂准备：将所有试剂置于室温 30 min，涡旋混匀离心后使用。
2. 请在室温配制如下反应液，请勿冰上操作。
3. 配制完成后，涡旋混匀，离心后分装。

| 组分                                   | 20 μL 体系 | 25 μL 体系 |
|--------------------------------------|----------|----------|
| TOROIVD® 5G qPCR Premix with UNG-WS- | 10 μL    | 12.5 μL  |
| 引物探针预混液 <sup>[1][2]</sup>            | 5 μL     | 2.5 μL   |
| DNA 模板 <sup>[3]</sup>                | 5 μL     | 10 μL    |

### 备注:

- [1] 引物探针预混液：初始引物终浓度为 0.6 μM 及初始探针终浓度为 0.1 μM；如果灵敏度不佳请将引物终浓度在 0.2-0.8 μM，探针在 0.1-0.4 μM 之间进行浓度优化。建议使用正交优化，选出最佳浓度范围。
- [2] 20 μL 或 25 μL 反应体系：两种体系保持引物探针在反应体系中的终浓度应一致，25μL 反应体系适合极低模板检测。
- [3] DNA 模板：使用核酸提取模板且使用无酶水或 TE 缓冲液稀释，不可使用生理盐水进行稀释，务必将模板加入到反应液液面以下。

4. 轻轻混合反应液，离心后上机。

### RNA 检测反应体系配制:

1. 试剂准备：将所有试剂置于室温 30 min，涡旋混匀离心后使用。
2. 请在室温配制如下反应液，请勿冰上操作。
3. 配制完成后，涡旋混匀，离心后分装。

| 组分                                   | 20 μL 体系 | 25 μL 体系 |
|--------------------------------------|----------|----------|
| TOROIVD® 5G qPCR Premix with UNG-WS- | 10 μL    | 12.5 μL  |
| 逆转录酶及 RNase 抑制剂预混液 <sup>[4]</sup>    | 1 μL     | 1.25 μL  |
| 引物探针预混液 <sup>[1][2]</sup>            | 4 μL     | 1.25 μL  |
| RNA 模板                               | 5 μL     | 10 μL    |

### 备注:

- [4] 逆转录酶及 RNase 抑制剂预混液：我公司提供 10 款逆转录预混液供筛选（货号：RRM100），该预混液请-20℃保存。

4. 轻轻混合反应液，离心后上机。

**通用循环条件设置:**

| 通用反应条件 |            |      |        |    |
|--------|------------|------|--------|----|
| 步骤     |            | 温度   | 时间     | 循环 |
| 1      | 恒温阶段       | 52°C | 5 min  | 1  |
| 2      | 预变性        | 95°C | 5 min  | 1  |
| 3      | 变性         | 95°C | 15 sec | 45 |
| 4      | 退火、延伸并检测荧光 | 60°C | 30 sec | 45 |

**【储存条件】**

该试剂可在 2-8°C 下保存 1 年。如需较长时间保存，该试剂可于 -20°C 保存 2 年。

**【注意事项】**

**1. 试剂未完全融化，降低检测性能。**

答：若 -20°C 保存，请提前 1 天以上转到 2-8°C 保存，促使试剂融化。

若 2-8°C 保存，请室温静置 30min，促使试剂融化。

请勿冰上操作，以防融化不充分。

**2. 反应体系混合不均匀，降低检测性能。**

答：先按比例配制除模板外的荧光 PCR 反应液，并充分涡旋混合后使用。也可荧光 PCR 反应液提前配制 2-8°C 保存，一周内使用可促使反应液混合均匀。

**3. 低拷贝病毒检测重复性差。**

答：请注意模板的保存条件，以防止模板降解。

请将模板加入到反应液液面以下，以防模板吸附管壁。

请将配制好的反应体系，轻弹混合后离心上机。

请将反应体系扩大，模板添加量 10μL 以上，降低抽样误差。

**4. 荧光信号值偏低。**

答：荧光信号值由引物探针浓度决定，可以通过正交浓度优化调高荧光信号值。

荧光信号值和仪器算法有关，不同仪器的荧光信号值有很大差异。

荧光信号值不决定试剂检测灵敏度，Cq 值在 37-40 之间的检出率才是试剂关键性能。

**5. 荧光曲线未出现平台期。**

答：荧光信号平台期和仪器算法有关，不同仪器的荧光平台期有很大差异。

荧光信号平台期和模板浓度有关，低浓度模板平台期来不及出现。

荧光平台期不决定试剂检测灵敏度，Cq 值在 37-40 之间的检出率才是试剂关键性能。

**【联系信息】**



天罗诊断科技江苏有限公司

TOROIVD TECHNOLOGY COMPANY LIMITED.

总部地址：上海宝山区江杨南路 880 号新杨湾科创园 C1 栋

生产地址：江苏如东珠江路 888 号生命健康产业园 20 号楼

邮箱：market@toroivd.com

网址：www.toroivd.cn