

AipMix 2× SYBR Green qPCR SuperMix(Universal ROX)

使用说明书

版本号：240220

目录号：FP308

包装量：

目录编号	包装单位	产品规格
FP308-01	1.25mL	125次*20uL
FP308-02	4*1.25mL	500次*20uL
FP308-03	40*1.25mL	5000次*20uL

产品组成	FP308-01	FP308-02	FP308-03
2× SYBR Green qPCR Mix (Universal ROX)	1.25mL	4*1.25mL	40*1.25mL

产品储存：2-8°C运输，-20°C避光保存，保质期 24 个月。使用前充分融解混匀，短期使用可放在 4°C存放 3 周，可反复冻融达 30 次。

适用范围：本制品用于 DNA 样本的扩增定量，可以扩增所有物种来源的 DNA，样本类型可以是基因组 DNA、cDNA、质粒 DNA、λ DNA 等。

制品说明：

本制品是采用 SYBR® Green I 嵌合荧光法进行 Real-Time PCR 的专用试剂。已经将热启动 HotMaster Taq DNA 聚合酶、dNTP、特殊稳定剂、优化的反应缓冲液、BSA 和 SYBR® Green I 等试剂预混成一种适合 Real-Time PCR 反应检测用 2× Premix Type 试剂，具有灵敏度高、特异性强、稳定性好等特点。使用时只需加入模板、引物和水，便可在宽广的定量区域内得到良好的标准曲线，对目的基因进行准确定量检测，重复性好，可信度高。

本制品采用全新的 HotMaster Taq DNA 聚合酶，该酶不同于一般 Hot-start 酶之处在于，一般的 Hot-start 酶只在第一步温度升高之前封闭酶的活性，而 HotMaster Taq DNA 聚合酶是利用抑制剂通过温度调节方式封闭 HotMaster Taq DNA 聚合酶的底物结合位点，温度低于 40°C 时，形成非活性的酶-抑制剂复合物，当温度升高至引物特异性的退火温度时，结合平衡向模板-特异性引物复合物形成方向移动，因此最大限度的减少 PCR 扩增全程中的非特异性扩增产物产生，大大提高了荧光定量 PCR 反应的精确性。

本制品已加入特殊的通用 ROX 参比染料, 具有高通用性, 适用于所有型号的 qPCR 仪器, 无需在另外添加 ROX, 也无需在不同的仪器上调整 ROX 的使用浓度, 操作更简单更便捷, 即可快速高效的进行 qPCR 扩增。ROX 主要用于消除信号本底以及校正孔与孔之间产生的荧光信号误差。客户可根据 qPCR 仪器技术指导自行决定是否添加 ROX 参比染料和需要添加的浓度。

建议 PCR 条件: (以 20 μ L 和 50 μ L 反应体系为例, 反应液配制请在冰上进行)

Components	Volume(20 μ L)	Volume(50 μ L)	Final Concentration
2 \times SYBR Green qPCR Mix (Universal ROX)	10 μ L	25 μ L	1 \times
DNA Template	2 μ L	4 μ L	as required
Forward Primer(10 μ M)	0.4 μ L	1 μ L	0.2 μ M each
Reverse Primer(10 μ M)	0.4 μ L	1 μ L	0.2 μ M each
ddH ₂ O to final volume	20 μ L	50 μ L	Not applicable

PCR 循环(二步法):

95 $^{\circ}$ C: 2 min

95 $^{\circ}$ C: 15 sec

60 $^{\circ}$ C: 30-34 sec

Dissociation Stage



PCR循环(三步法):

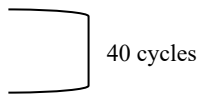
95 $^{\circ}$ C: 2 min

95 $^{\circ}$ C: 15 sec

60 $^{\circ}$ C: 15-20 sec

72 $^{\circ}$ C: 20-30 sec

Dissociation Stage



说明: 本制品兼容性强, 适用于不同厂家、型号的荧光定量PCR仪, 绝大多数情况下使用二步法和三步法均可获得良好效果。在实际使用中可以根据机型推荐和具体情况对程序加以微调。一般来说, 二步法扩增特异性高, 三步法扩增效率高。如果融链曲线较差, 可以尝试两步法扩增; 若因使用T_m值较低的引物等原因, 得不到良好的实验结果时, 可尝试加长延伸时间或者进行三步法PCR扩增。

注意事项:

1. 本制品已加入特殊的通用 ROX 参比染料, 具有高通用性, 可用于各种型号的 qPCR 仪器。无论是需要添加 ROX 的仪器(如 ABI 的各种需要高 ROX 或者低 ROX 机型), 还是不需要添加 ROX 的仪器(如 Roche Light Cycler、Bio-Rad CFX96 等机型), 均适用于本制品。
2. 本制品在使用前请轻柔的上下颠倒混匀后进行使用, 也可将预混合试剂经短暂离心后混匀进行使用。请勿漩涡振荡混匀, 避免产生过量气泡, 影响定量结果。
3. 本制品含 SYBR Green I 强光下易分解和降低敏感度, 保存和使用时应避免长时间

强光照射。建议在冰上配制 PCR 反应液，再放入 PCR 仪器中进行扩增，这样可以提高扩增特异性，减少背景。

4. 本制品含有 4mM MgCl₂(反应体系终浓度是 2mM Mg²⁺)，可用 25mM MgCl₂ 优化 Mg²⁺浓度。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
6. 本产品仅供科研使用，严禁用于临床诊断和药物等用途。

荧光定量PCR实验常见问题和解决方案

Q1: 无信号值出现

- A1.1: 反应循环数不够。一般都要在 35 个循环以上，可根据实验情况增加循环(如至 45cycles)，但高于 45 个循环会增加过多的背景信号。
- A1.2: 检测荧光信号的步骤有误。一般 SG 法采用 72°C 延伸时采集，而 TaqMan 法则一般在退火结束时或延伸结束时采集信号。
- A1.3: 引物或探针降解。可通过 PAGE 电泳检测其完整性。
- A1.4: 引物或探针的设计，如探针高于引物的温度不够，造成探针未杂交上而产物已延伸的情况。
- A1.5: 模板量不足。对未知浓度的样品应从系列稀释样本的最高浓度做起。
- A1.6: 模板降解。避免样品制备中杂质的引入及反复冻融的情况。

Q2: CT 值出现过晚

- A2.1: 扩增效率低，反应条件不够优化。设计更好的引物或探针；用三步法进行反应；适当降低退火温度；增加镁离子浓度等。
- A2.2: PCR 各种反应成分的降解或加样量的不足。
- A2.3: PCR 产物太长。一般采用 100-150bp 的产物长度，一般不超过 500bp。

Q3: 标准曲线的线性关系不佳

- A3.1: 加样存在误差，使得标准品不呈梯度。
- A3.2: 标准品出现降解。应避免标准品反复冻融，或重新制备并稀释标准品。
- A3.3: 引物或探针不佳。重新设计更好的引物和探针。
- A3.4: 模板中存在抑制物，或模板浓度过高。

=====



扫码关注我们