

版本号: FP240605

FastUniversal qPCR PreMix (SYBR Green)

FastUniversal快速荧光定量PCR

预混试剂 (SYBR Green)

目录号: FP227

产品内容

产品组成	FP227-01 20 μ l \times 125 rxn	FP227-02 20 μ l \times 500 rxn	FP227-03 20 μ l \times 5000 rxn
2 \times FastUniversal qPCR PreMix	1.25 ml	4 \times 1.25 ml	10 \times 4 \times 1.25 ml
RNase-Free ddH ₂ O	1 ml	5 \times 1 ml	10 \times 5 \times 1 ml

储存条件

收到本产品后, 请立即置于-30~-15 $^{\circ}$ C下避光保存。保质期24个月。

从-30~-15 $^{\circ}$ C取出使用时, 将冻存的2 \times FastUniversal qPCR PreMix溶解, 然后轻轻颠倒混匀, 待溶液完全均一后再行使用。如解冻后没有使用, 须彻底混匀后重新冷冻(在解冻过程中盐会出现分层现象, 未混匀就进行冷冻, 盐晶体的析出将会对酶造成损害)。如需一段时间内经常取用, 可在2-8 $^{\circ}$ C下保存, 保质期3个月。避免反复多次冻融。

产品简介

本产品是采用SYBR Green嵌合荧光法进行Real-Time PCR的专用试剂，可对目标DNA进行高灵敏度、快速、高特异的定量检测。优化的预混液可缩短Real-Time PCR的反应时间，适用于标准或快速qPCR仪。

2×FastUniversal qPCR PreMix中用到的热启动Taq DNA聚合酶经过新型抗体修饰，配合优化的快速PCR Buffer体系，可确保在所有的Real-Time PCR仪上进行灵敏的qPCR反应。具有反应快速，高扩增效率，高扩增特异性，高灵敏度，扩增曲线起峰早，荧光值高等特点，使得在不影响PCR效果的前提下更快获得结果，节约科研时间和能源。

另外2×FastUniversal qPCR PreMix中还预混了ROX校正染料，同时适合高、低ROX校正需求的所有qPCR定量平台，进一步简化了操作流程。

产品特点

反应快速：新的热启动Taq DNA聚合酶热启动时间短、酶活性高、反应快，反应Buffer经针对性改造大幅缩短反应时间，快速获得实验结果。

扩增能力强：新的热启动Taq DNA聚合酶搭配优化的PCR Buffer体系具有高扩增效率、产物特异性好、扩增能力强等特点。

试剂余量可视：2×FastUniversal qPCR PreMix采用无色透明管包装，光稳定性好，透明管包装更方便客户取用。

仪器普适性好：2×FastUniversal qPCR PreMix中预混了ROX校正染料，同时适合高、低ROX校正需求的所有qPCR定量平台。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 配制PCR预混液时要注意混匀充分，如果试剂没有混匀，会导致PCR组分局部浓度过高，使得反应性能下降。
 2. 引物纯度对反应特异性影响很大，建议使用PAGE级别以上纯化的引物。
 3. 引物终浓度为0.3 μM可以在大多数体系中获得良好的扩增结果。如果需要进一步优化，可以在0.2-0.5 μM范围内调整引物浓度。
 4. 20 μl反应体系中，cDNA模板的使用量一般小于100 ng，基因组DNA模板量一般小于50 ng，反转录产物作为模板时，反转录体系的使用量应不超过PCR体系终体积的20%。
-

操作步骤

建立Real-Time PCR反应体系：

1. 融解2×FastUniversal qPCR PreMix (如果保存在-30~-15℃)，模板，引物和RNase-Free ddH₂O，并将所有试剂在室温下溶解并彻底混匀。
2. 建议置于冰上进行Real-Time PCR反应液的配制。

反应体系：

组成成分	50 μl 体系	25 μl 体系	20 μl 体系	终浓度
2×FastUniversal qPCR PreMix	25 μl	12.5 μl	10 μl	1×
正向引物 (10 μM)	1.5 μl	0.75 μl	0.6 μl	300 nM*
反向引物 (10 μM)	1.5 μl	0.75 μl	0.6 μl	300 nM*
DNA模板	—	—	—	-ng-pg
RNase-Free ddH ₂ O	至50 μl	至25 μl	至20 μl	—

* 引物终浓度为300 nM可以在大多数体系中获得良好的扩增结果。扩增效率不高时，可增加PCR反应体系中的引物浓度；发生非特异扩增时，可适当减少PCR反应体系中的引物浓度。需要进一步优化引物浓度的，可以在200-500 nM范围内调整。

进行Real-Time PCR反应：

建议采用两步法PCR反应程序进行反应；若模板量较低等因素导致扩增效果不佳，可使用三步法程序进行PCR反应。

两步法反应程序：

阶段	循环	温度	时间	内容	荧光信号采集
预变性	1×	95℃	2 min	预变性	否
PCR反应	40×	95℃	5 sec	变性	否
		60℃ ^{Δ1}	15 sec ^{Δ2}	退火/延伸	是
熔解曲线分析 (Melting/Dissociation Curve Stage)					



TIANGEN 官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

三步法反应程序：

阶段	循环	温度	时间	内容	荧光信号采集
预变性	1×	95°C	2 min	预变性	否
PCR 反应	40×	95°C	5 sec	变性	否
		50-60°C ^{△3}	10 sec	退火	否
		72°C	15 sec ^{△2}	延伸	是
熔解曲线分析 (Melting/Dissociation Curve Stage)					

^{△1} 使用60°C进行扩增时，可以在大多数体系中获得良好的扩增结果。扩增效果不佳时，可以尝试在56-66°C 范围内进行调整。

^{△2} 不同型号的qPCR仪对延伸时间有着不同的最短要求，几种常见仪器的时间设定见下表：

使用ABI 7700/7900HT/7500 Fast, Roche, BioRad和Agilent等公司荧光定量PCR仪时请设定在15 sec。

使用ABI 7000和7300时请设定在31 sec。

使用ABI 7500时请设定在30 sec。

^{△3} 通常引物退火温度比引物的解链温度 (T_m) 低5°C，如果引物碱基数较少，可以适当提高退火温度，这样可以使PCR的特异性增加；如果碱基数较多，那么可以适当降低退火温度。

3. 盖上反应管，轻柔混匀。可短暂离心，确保所有组分均在管底。

4. 将反应体系置于荧光定量PCR仪中，开始反应。