

## ArtiCan<sup>ATM</sup> SYBR qPCR Mix (Low ROX Premixed)

### ■ 目录号

TSQ0101

### ■ 产品简介

本产品是采用SYBR Green I嵌合荧光法进行Real Time PCR的专用试剂,可对目的片段进行快速、高效、特异性的定量检测。预混液中包含抗体修饰的热启动DNA聚合酶、精心优化的buffer体系、优化的SYBR Green I浓度以及PCR反应增强剂,使产品具有特异性强、扩增效率高、扩增曲线标准等特点,有效减少了非特异性扩增,可对宽广浓度范围的模板进行准确定量,获得稳定可靠的qPCR结果。本产品为浓度2×的预混液,预混液中含有ROX Reference Dye II(低浓度),可用于校正孔与孔之间荧光信号误差,使用时只需添加模板、引物和ddH<sub>2</sub>O,使Mix工作浓度为1×即可。

### ■ 产品组成

组分	规格
2×ArtiCan <sup>ATM</sup> SYBR qPCR Mix (Low ROX Premixed)	5×1.0 mL

### ■ 产品应用

本产品适用于SYBR Green I染料法检测及分析的荧光定量实验,兼容各种Low ROX版本荧光定量PCR仪。

ROX类型	荧光定量PCR仪器机型	
Low ROX	Applied Biosystems	7500, 7500 Fast, ViiA <sup>TM</sup> 7, QuantStudio 3/5/6 Flex/7 Flex/12k Flex
	Stratagene	MX4000 <sup>TM</sup> , MX3005P <sup>TM</sup> , MX3000P <sup>TM</sup>

### ■ 产品特点

- 超快的延伸速度;
- 灵敏度高、特异性强、稳定性好;
- 抗体修饰的热启动酶,有效减少引物二聚体和非特异性扩增;
- 预混有Low ROX,减少加样步骤。

### ■ 使用方法

#### 1. 推荐PCR反应体系

组分	20 μL体系	50 μL体系	终浓度
2×ArtiCan <sup>ATM</sup> SYBR qPCR Mix (Low ROX Premixed) <sup>a</sup>	10 μL	25 μL	1×
10 μM上游引物	0.4 μL	1.0 μL	0.2 μM
10 μM下游引物	0.4 μL	1.0 μL	0.2 μM
模板DNA <sup>b</sup>	见标注	见标注	
ddH <sub>2</sub> O	up to 20 μL	up to 50 μL	

a. 包含抗体修饰的热启动DNA聚合酶、dNTPs、SYBR Green I、Low ROX、PCR反应增强剂等。

b. 模板DNA用量因模板溶液中存在的靶基因拷贝数不同而不同,建议进行模板梯度稀释预试验得到合适的用量。模板用量建议不超过100 ng。若以未稀释的cDNA原液为模板时,用量不超过PCR反应体系总体积的10%。

#### 2. 推荐PCR反应程序

1) 快速程序:

阶段	温度	时间	循环数
预变性	95°C	20 s	1 cycle
循环反应	95°C	3 s	40 cycles
	60°C	10 s <sup>c</sup>	

熔解曲线分析<sup>d</sup>

2) 标准程序:

阶段	温度	时间	循环数
预变性	95°C	1 min	1 cycle
循环反应	95°C	10 s	40 cycles
	60°C	20 s <sup>c</sup>	

熔解曲线分析<sup>d</sup>

c. 对于采集信号时间不能设置为10 s或20 s的仪器机型,请将信号采集时间设置为仪器机型能支持的最短时间(例:使用ABI 7500时,请将信号采集时间设置为30 s)。

d. 实验中使用仪器机型不同,熔解曲线采集程序也不同,通常使用仪器默认的熔解曲线采集程序即可。

## ■ 注意事项

- 尽量避免反复冻融。
- 建议提前混样配制反应体系,注意加样准确,避免操作误差。
- 采取必要的防污染措施,使用优质的实验耗材,操作时注意更换PE手套。
- 本产品应在彻底融化并上下颠倒充分混匀后使用,为了获得最佳的扩增效率,建议在冰上配制反应体系。
- 本产品中含有荧光染料,配制qPCR反应液时应避免强光照射。
- 在优化qPCR反应时,应从操作、引物、反应条件等方面进行考虑。
- 设计高质量的引物,原则如下

推荐使用Primer3web (<http://bioinfo.ut.ee/primer3/>) 或者IDT (<http://sg.idtdna.com/Scitools/Applications/RealTimePCR/>) 等在线软件设计引物;

上下游引物Tm应相近(约60°C);

避开目的片段的同源序列;

跨内含子设计,避免基因组DNA的影响;

目的片段长度控制在80~200bp。

## ■ 常见问题与解决方法

常见问题	可能原因	解决方法
无Ct值 或Ct值偏大	模板浓度过低或降解	适当增加模板用量,检查模板是否降解,使用新鲜制备的模板
	模板纯度低,蛋白质、盐等杂质会影响PCR扩增和荧光检测	重新制备高质量的模板或对模板进行稀释,降低杂质浓度
	引物扩增效率低	重新设计高质量引物
	目的基因表达量低	提高模板中目的基因含量,如使用特异性引物进行反转
	反应循环数不够	循环数一般设置为40

04

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

NTC出现 明显扩增	环境或气溶胶核酸污染	使用Trelief® Solution核酸清洁液(目录号:TSP001)对环境进行清洁处理
	qPCR体系污染	使用RNase-free耗材
	存在引物二聚体	进行熔解曲线分析,结合高浓度琼脂糖凝胶电泳辅助判断是否为二聚体,若是则需重新设计引物
Ct值重复性差	加样误差	使用优质耗材与移液器,避免加样挂壁,模板浓度不宜太高
	模板浓度过低	减少模板稀释倍数
	仪器误差	选择适用仪器,定期校准
熔解曲线 多峰	存在引物二聚体	进行熔解曲线分析,结合高浓度琼脂糖凝胶电泳判断是否为二聚体,若是则需重新设计引物
	非特异性扩增	重新设计引物
	环境或体系污染	使用Trelief® Solution核酸清洁液(目录号:TSP001)对环境进行清洁处理;使用RNase-free耗材
	基因组污染	去除基因组DNA,或跨内含子设计引物
熔解曲线单峰 但峰不尖锐	存在大小相近的非特异性扩增,起峰、落峰温度跨度较大	重新设计引物

## ■ 保存条件

-25~-15°C避光保存,保质期2年,干冰运输。

## ■ 技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议,欢迎随时与我们联系:

product@tsingke.com.cn。

05

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

## ■ 关联产品推荐

产品系列	产品名称	货号	规格
RNA 提取试剂	TsingZol Total RNA Extraction Reagent TsingZol总RNA提取试剂	TSP401	100 mL
	Trelief® RNAprep Pure Plant Kit RNAprep Pure植物总RNA提取试剂盒 (离心柱型)	TSP411	50次
	Trelief® RNAprep FastPure Tissue & Cell Kit RNAprep FastPure动物组织/细胞总RNA 提取试剂盒(双柱型)	TSP413	50次
	Trelief® Universal miRNA Extraction Kit 通用型miRNA提取试剂盒	TSR4001-50	50次
	Trelief® Blood Total RNA (miRNA) Extraction Kit 血液总RNA (miRNA) 提取试剂盒	TSR4201-50	50次
反转录 试剂	Goldenstar® RT6 cDNA Synthesis Kit Ver.2 cDNA第一链合成逆转录试剂盒(去基因组)	TSK3025/M	30/100次
	SynScript® III RT SuperMix for qPCR (+gDNA Remover)	TSK3145/M	50/100次
人源验证 引物	SynScript® III miRNA RT SuperMix (by tailing A) miRNA第一链cDNA合成试剂盒(加尾法)	TSK3001	20次
	V-qPCR primers	H00001- H05124	1 OD/管, 2管
qPCR试剂	2×T5 Fast qPCR Mix (Probe)	TSE301	5×1.0 mL
	ArtiCan <sup>CEO</sup> SYBR qPCR Mix	TSE401	5×1.0 mL
	ArtiCan <sup>ATM</sup> SYBR qPCR Mix	TSE501	5×1.0 mL



网址: [www.tsingke.com.cn](http://www.tsingke.com.cn)

地址: 湖北省鄂州市葛店开发区东湖高新智慧城E栋

06

1.1.1.20230718