

1.1×EasyQ SYBR qPCR Mix (Low ROX Premixed) EasyQ即用型染料法qPCR预混液

■ 目录号

TSQ0102

■ 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。预混液中包含抗体修饰的热启动Taq DNA聚合酶、精心优化的buffer体系以及PCR反应增强剂,使产品具有高灵敏度、高特异性的优点,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1.1×浓度的预混液,使用时无需额外添加ddH₂O补充体系,只需加入模板和引物即可进行扩增。此外,本产品中预混了Low ROX Reference Dye,用于校正与qPCR扩增无关的荧光波动,可大大减少孔间差异。

■ 产品组成

组分	规格
1.1×EasyQ 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版本与无需荧光矫正版本荧光定量PCR仪。

ROX类型	荧光定量PCR仪器机型	
Low ROX Reference Dye	Applied Biosystems	7500, 7500 Fast, ViiA™ 7, QuantStudio 3/5/6 Flex/7 Flex/12k Flex
	Stratagene	MX4000™, MX3005P™, MX3000P™
No ROX Reference Dye	ThermoFisher	PikoReal™
	Bio-Rad	CFX96™, CFX384™, iCycler iQ™, iQ™5, MyiQ™, MiniOpticon™, Opticon®, Opticon2, Chromo4™
	Roche	Applied Science LightCycler®480, LightCycler®2.0, LightCycler®96
	Qiagen/Corbett	Rotor-Gene®Q, Rotor-Gene®3000, Rotor-Gene®6000
	TaKaRa	Thermal Cycler Dice™ Real Time, System TP700/TP800/TP850/TP900/TP950
	Illumina	Eco qPCR
	Eppendorf	Mastercycler™ ep realplex, realplex 2s

■ 产品特点

- 优秀的延伸速度;
- 1.1×预混液,无需额外添加ddH₂O;

- 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;
- 常温解冻,方便使用。

■ 使用方法

1. 推荐PCR反应体系

组分	20 μL体系
1.1×EasyQ SYBR qPCR Mix (Low Rox Premixed) ^a	18 μL
10 μM上游引物	0.5 μL
10 μM下游引物	0.5 μL
模板DNA ^b	1 μL

- 包含抗体修饰的热启动Taq DNA聚合酶、dNTPs、SYBR Green I、PCR反应增强剂、Low ROX Reference Dye等。
- 当模板浓度较低时,可适当减小模板稀释倍数或增大模板添加量,如添加1~2 μL的模板,建议模板用量不超过反应体系的1/10。

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
循环反应	95°C	1 s	40
	60°C	10 s ^c	

熔解曲线分析^d

2) 标准程序：

阶段	温度	时间	循环数
预变性	95℃	1 min	1
循环反应	95℃	10 s	40
	60℃	20 s ^c	
熔解曲线分析 ^d			

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℃) ；
- 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80~200 bp。

■ 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
NTC出现明显扩增	反应循环数不够	循环数一般设置为40
	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℃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。

■ 关联产品推荐

产品名称	货号	应用
TsingZol总RNA提取试剂	TSP401	酚氯法提取总RNA
Hi-Pure植物总RNA提取试剂盒(双柱型)	TSP0201	常规植物组织总RNA提取
RNAprep FastPure动物组织/细胞总RNA提取试剂盒(双柱型)	TSP413	动物与细胞总RNA提取
SynScript® III RT SuperMix for qPCR (+gDNA Remover)	TSK3145/M	第一链cDNA合成
V-qPCR primers	H00001-H05124	人源现货引物
ArtiCan™ SYBR qPCR Mix	TSE501	抗体修饰染料法qPCR试剂

