

2× Universal SYBR qPCR Mix (Blue) 通用型染料法qPCR预混液(蓝色)

目录号

DLQ104

产品简介

本产品是采用SYBR Green I嵌合荧光法进行Real Time PCR的专业试剂。本产品为浓度2×的预混液，颜色为蓝色，具有颜色示踪作用，便于加样，且已预混特殊的通用ROX，适用于各种不同的qPCR仪器。预混液中包含抗体修饰的新型热启动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，可对宽广浓度范围内的模板进行准确定量，获得稳定可靠的qPCR结果。使用本产品时只需添加模板、引物和ddH₂O，使Mix工作浓度为1×即可。

产品组成

组分	规格
2× Universal SYBR qPCR Mix (Blue)	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High ROX、Low ROX与无需荧光校正版本荧光定量PCR仪。

产品特点

- 预混通用ROX，适用于各种qPCR仪器；
- 颜色示踪，便于加样。

使用方法

1.推荐PCR反应体系

组分	20 μL体系	终浓度
2× Universal SYBR qPCR Mix (Blue) ^a	10 μL	1×
10 μM上游引物	0.4 μL	0.2 μM
10 μM下游引物	0.4 μL	0.2 μM
模板DNA ^b	见标注	
ddH ₂ O	up to 20 μL	

- a. 包含抗体修饰的新型热启动DNA聚合酶、dNTPs、SYBR Green I、PCR反应增强剂、通用ROX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

阶段	温度	时间	循环数
预变性	95°C	1 min	1
循环反应	95°C	10 s	40
	60°C	30 s	

熔解曲线分析^c

- c. 实验中使用仪器机型不同，熔解曲线采集程序也有不同，通常使用仪器默认熔解曲线采集程序即可。

注意事项

- 本产品请勿反复冻融；
- 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。

保存条件

-25~-15°C避光保存，保质期2年。≤0°C运输。

常见问题与解决方案

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

无Ct值 或Ct值偏大	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
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辅助判断是否为二聚体，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

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 一管式逆转录试剂(去基因组)	DLR102	一管式一步法逆转录预混液
V-qPCR primers	H00001- H05124	人源现货引物
1.1× EasyQ SYBR qPCR Mix (Low ROX Premixed)	DLQ103	抗体修饰染料法qPCR试剂

