

2×ArtiCan^{ATM} Probe qPCR Mix

ArtiCan^{ATM} 探针法 qPCR 预混液

目录号

DLQ201

产品简介

本产品是一款专为探针法实时荧光定量 PCR (qPCR) 优化的 2×预混液，适用于病原微生物 DNA 为模板的高特异性、高灵敏度检测。采用抗体修饰热启动 DNA 聚合酶，搭配优化的阳离子缓冲液和 PCR 增强剂，显著提升扩增效率，确保低拷贝基因的精准检测，并在宽动态范围内呈现优异的扩增线性，实现靶基因的准确定量。本产品支持 4 重检测，搭配快速程序，显著缩短检测时间。配套的 ROX Reference Dye I / II 可用于校正仪器孔间误差。

产品组成

组分	规格
2×ArtiCan ^{ATM} Probe qPCR Mix ^a	5×1.0 mL
50×Rox Reference Dye I (High) ^b	200 μL
50×Rox Reference Dye II (Low) ^b	200 μL

- 包含抗体修饰 DNA Polymerase, dNTPs, Mg²⁺等；
- 荧光信号误差校准。

产品应用

- ◆ 本产品主要用于动植物 cDNA、病原微生物 cDNA 样本的定量检测。

产品特点

- ◆ 抗体修饰的热启动酶，超高特异性；
- ◆ 超高灵敏度、超快速扩增；
- ◆ 兼容不同定量设备。

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 ^{ATM} Probe qPCR Mix ^a	10 μL	25 μL	1×
10 μM 上游引物 ^b	0.4 μL	1 μL	0.2 μM
10 μM 下游引物 ^b	0.4 μL	1 μL	0.2 μM
10 μM 探针 ^c	见标注	见标注	
模板 DNA ^d	见标注	见标注	
50×ROX Reference Dye I / II ^e	0.4 μL	1 μL	1×
ddH ₂ O	up to 20 μL	up to 50 μL	

- 包含抗体修饰 DNA Polymerase、dNTPs、Mg²⁺等；
- 一般来说反应体系中引物终浓度为 0.2 μM 即可得到较好的扩增效果。当反应性能比较差时，可以在终浓度 0.1~1.0 μM 范围内调整引物浓度。
- 探针终浓度可以在 50~250 nM 之间调整。
- 模板 DNA 用量因模板溶液中存在的靶基因的拷贝数不同而不同，可进行模板梯度稀释预试验得到合适的用量。
- 可根据所使用荧光定量 PCR 仪机型确定是否添加 ROX Reference Dye 或添加类型，如下表所示：

ROX 选择	荧光定量 PCR 仪器机型	
ROX Reference Dye I	Applied Biosystems	5700, 7000, 7300, 7700, 7900, 7900HT, 7900HT Fast, StepOne™, StepOnePlus™
ROX Reference Dye II	Applied Biosystems	7500, 7500 Fast, QuantStudio 3/5/ 6 Flex/ 7 Flex/12 k Flex, ViiA™ 7
	Stratagene	MX4000™, MX3005P™, MX3000P™
No ROX Reference Dye	Bio-Rad	CFX96™, CFX384™, iCycler iQ™, iQ™5, Myi™Q, MiniOpticon™, Opticon®, Opticon 2, Chromo4™
	Qiagen/Corbett	Rotor-Gene®Q, Rotor-Gene®3000, Rotor-Gene®6000
	TaKaRa	Thermal CyclerDice™Real Time, SystemTP700/TP800/TP850/TP900/TP950
	Roche	AppliedScienceLightCycler®480, LightCycler®2.0, LightCycler®96
	Eppendorf	Mastercycler™ep realplex, realplex 2s
	Illumina	Eco qPCR
	ThermoFisher	PikoReal™

2. 推荐 PCR 反应程序

1) 标准程序：

阶段	温度	时间	循环数
预变性	95℃	1 min	1
变性	95℃	10 s	40
退火/延伸	60℃	30 s*	

2) 快速程序：

阶段	温度	时间	循环数
预变性	95℃	20 s	1
变性	95℃	3 s	40
退火/延伸	60℃	10 s*	

如需使用快速程序，请先确认 Real Time PCR 仪是否支持快速扩增程序。

*荧光信号采集。

注意事项

- ◆ 本产品尽量避免反复冻融；
- ◆ 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；
- ◆ 设计高质量的引物，原则如下：

推荐使用Primer3 web (<http://bioinfo.ut.ee/primer3>)或者IDT (<http://sg.idtdna.com/Scitools/Applications/RealTimePCR>)等在线软件设计引物；

探针序列应尽量接近正向或者反向引物，但是不能与之有重合区域。

探针长度一般为18~40 bp。

应避免连续相同的碱基出现，特别是要避免GGGG或者更多的连续G出现。

探针5'端应避免使用碱基G。

探针的退火温度应为65~67℃。

保存条件

-25~-15℃ 避光保存，保质期 2 年。≤ 0℃ 运输。

常见问题及解决方案

常见问题	可能原因	解决方案
扩增曲线形状异常	信号太弱，经系统校正后产生	提高模板浓度重复实验。
	模板浓度较高，基线的终点值大于 CT 值	减小基线终点（CT 值-4），重新分析数据。
	反应管内留有气泡	处理样本时要注意离心，进行扩增反应之前要仔细检查反应管内是否有气泡残留。
反应结束无扩增曲线出现	反应循环数不够	一般设置循环数为 45，但需要注意的是过多的循环会增加过多的背景信号，降低数据可信度。
	确认程序中是否设置了信号采集步骤	两步法扩增程序一般将信号采集设置在退火延伸阶段；三步法扩增程序应当将信号采集设置在 72℃ 延伸阶段。
	确认引物是否降解	长时间未用的引物应先通过 PAGE 电泳检测完整性，以排除其降解的可能。
	模板浓度太低	减少稀释度重复实验，一般未知浓度的样品先从最高浓度做起。
	模板降解	重新制备模板，重复实验。
CT 值出现太晚	扩增效率极低	优化反应条件，尝试三步法扩增程序，或者重新设计合成引物。
	模板浓度太低	降低稀释倍数重复实验，一般未知浓度的样品先从最高浓度做起。
	模板降解	重新制备模板，重复实验。

	PCR 产物太长	推荐 PCR 产物长度为 80 - 150 bp。
	体系中存在 PCR 抑制剂	一般为模板带入，提高模板稀释倍数或者重新制备模板重复实验。
阴性对照出现明显扩增	反应体系污染	更换新的 Mix、水、引物、探针重复实验。
绝对定量时标准曲线线性关系不佳	加样误差	提高模板稀释倍数，提高加样体积。
	标准品降解	重新制备标准品，重复实验。
	模板浓度太高	提高模板稀释倍数。
实验重复性差	加样体积失准	使用性能较好的移液枪；提高模板稀释倍数，提高加样体积。
	模板浓度太低	模板浓度越低，重复性越差，减少模板稀释度或提高加样体积。
	定量 PCR 仪温度控制孔间差异大	定期校准仪器。

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
RNAprepFastPure 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
ArtiCan ^{ATM} SYBR gPCR Mix	DLQ102	适用于 SYBR GreenI 染料法检测及分析的荧光定量实验

说明书版本号

1.1.2.Q201.2509

