



2×RealStar Power SYBR qPCR Mix (UNG)

2×RealStar Power 染料法 qPCR 预混液 (UNG)

版本号: V220101

货号: A312
保存: -20°C避光
运输: 低温

货号	规格
A312-01	1.1 ml × 1 支
A312-05	1.1 ml × 5 支
A312-10	1.1 ml × 10 支

【产品概述】

本产品是在 2×RealStar Green Power Mixture (Cat#A311) 基础之上, 通过添加优化比例的 dUTP 和 UNG 酶而开发出的新型防污染染料法实时荧光定量 PCR 预混体系。产品含有优化浓度的 Power HSTaq DNA Polymerase、SYBR Green I、dNTPs、dUTP、UNG 酶 (尿嘧啶 DNA 糖基化酶)、Mg²⁺、反应缓冲液和稳定剂等成分。在 PCR 反应中以 dUTP 代替 dTTP, 扩增产物片段中的 T 被 U 取代, 形成含 dU 碱基的 PCR 扩增产物, 而高活性的 UNG 酶可以快速降解反应体系中的含 U 的 DNA 片段, 有效消除环境中 PCR 产物的残留污染, 大大降低扩增产物污染导致的假阳性, 从而保证扩增的特异性和准确性。

本产品为 2×防污染预混化学修饰型荧光定量 PCR 反应体系, 使用时只需加入模板、引物、ROX Reference Dye (用以校正孔与孔之间产生的荧光信号误差, 根据不同荧光定量 PCR 仪选择使用) 和水, 使其工作浓度为 1×, 即可进行反应。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点, 可最大限度地减少人为误差、节约 PCR 实验操作时间、降低污染机率。

【产品组分】

组分名称	A312-01	A312-05	A312-10
2×RealStar Power SYBR qPCR Mix (UNG)	1.1 ml × 1	1.1 ml × 5	1.1 ml × 10
*High/Low ROX Reference Dye	根据仪器型号选配	根据仪器型号选配	根据仪器型号选配

*注: 不同仪器所需 ROX Reference Dye 不同, 如需添加, 需致电本公司或向服务您的销售人员索取:

需加 High ROX Reference Dye (50×) 的机型: ABI Prism7000/7300/7700/7900HT 和 ABI Step One /ABI Step One Plus。

需加 Low ROX Reference Dye (50×) 的机型: ABI Prism7500 /7500 Fast, MJ Research Chromo4, Opticon (II), Corbett Rotor Gene 3000。

无需加 ROX Reference Dye 的机型: Thermal Cycler Dice Real Time System, LightCycler, Smart Cycler System, Corbett Rotor-gene 6000, Agilent Technologies Mx3000P 等荧光定量 PCR 仪。

【保存条件】

-20°C避光保存, 保质期 24 个月, 避免反复冻融。如果经常使用, 可置于 4°C保存至少 3 个月。

【注意事项】

- 使用前请上下颠倒轻轻混匀, 尽量避免起泡, 并经短暂离心后使用。
- 尽可能减少 2×RealStar Power SYBR qPCR Mix (UNG) 在光下的曝露时间, 长时间的曝光可导致荧光信号减弱。
- 反应液的配制、分装请一定使用无污染的枪头、Microtube 等, 尽量避免交叉污染。
- 本品不能用于杂交探针法。

【使用方法】

用户需自备的试剂: cDNA 或 DNA 模板、引物。

请按照不同品牌荧光定量 PCR 仪的使用说明书要求进行实验操作。

操作示例: 分别以 20 μl 和 50 μl PCR 反应体系为例:



1. PCR 反应体系的建立:

组分	20 μ l体系	50 μ l体系
DNA模板*	1 μ l	1 μ l
正向引物 (10 μ M)**	0.5 μ l	1 μ l
反向引物 (10 μ M)**	0.5 μ l	1 μ l
2 \times RealStar Power SYBR qPCR Mix (UNG)	10 μ l	25 μ l
High/Low ROX Reference Dye***	0.4 μ l	1 μ l
Sterile Water	补足至20 μ l	补足至50 μ l

* 模板量: 10-100 ng 基因组DNA, 或1-10 ng cDNA为参照, 因不同物种的模板中含有的目的基因拷贝数不同, 可对模板进行梯度稀释, 以确定最佳的模板使用量。另外, Two Step RT-PCR反应的cDNA (RT反应液) 作为模板时的添加量不要超过PCR反应液总体积的10%。

** 引物: 通常引物浓度以0.2 μ M可以得到较好结果, 可以终浓度0.1-1.0 μ M作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下, 可提高引物的浓度; 发生非特异性反应时, 可降低引物浓度, 由此优化反应体系。为了获得理想的qPCR的效果, 扩增片段的长度建议为80-200 bp。

*** 不同仪器所需 ROX Reference Dye 不同, 或需要添加或不需要添加, 请根据仪器说明进行操作。

2. PCR 反应条件的设置:

建议采用两步法PCR反应程序, 如果该程序得不到良好的实验结果时, 再进行PCR条件的优化。由于使用Tm值较低的引物或扩增片段较长等原因, 两步法PCR反应扩增性能较差时, 可以尝试进行三步法PCR扩增反应。

两步法 PCR 扩增标准程序:				三步法 PCR 扩增程序:			
UNG 酶处理	50°C	5 min		UNG 酶处理	50°C	5 min	
预变性	95°C	10 min		预变性	95°C	10 min	
变性	95°C	15 s	} 40 Cycles	变性	95°C	15 s	} 40 Cycles
退火/延伸	60°C	1 min		退火	60°C	30 s	
溶解曲线 (仪器自动设置)				延伸	72°C	30 s	
				溶解曲线 (仪器自动设置)			

特别提示: 本制品中使用的 Power HSTaq DNA Polymerase 是化学修饰的热启动 DNA 聚合酶, 对聚合酶的本底活性抑制效果更好, 此酶在 75°C 以下温度没有活性, 从而有效避免在常温条件下由引物和模板非特异性结合或引物二聚体而产生的非特异性扩增, 酶的激活需要 **95°C 孵育 10 min**。反应体系可在室温下配制, 无需在冰上完成, 操作方便。

注: 以上举例为常规 qPCR 反应系统, 仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异, 需根据模板、引物、目的片段的特点设定最佳反应条件, 并根据比例放大或缩小反应体系。

3. 在相应的 real time PCR 仪器上完成实验, 并分析结果。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。