

PerfectStart® IV Fast Probe qPCR SuperMix UDG 快速探针法荧光定量PCR预混液 (含UDG)

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AQ732

版本号: Version 1.0

保存: -18°C及其以下温度下保存两年。

产品说明

本产品PerfectStart® IV Fast Probe qPCR SuperMix UDG是一款适用于DNA模板的探针法qPCR专用预混液,浓度为2×,只需额外加入引物、探针、模板,可以在单个反应孔中进行单重、双重及多重PCR反应,扩增过程中荧光量与扩增产物量成正比,可通过荧光量的检测确定样本核酸量。本产品采用新升级的PerfectStart® IV Taq热启动酶(经过基因改造的新一代Taq DNA聚合酶,采用抗体修饰法有效封闭DNA聚合酶的活性,阻止低温下的非特异扩增),搭配其最适反应Buffer,显著提升了模板亲和力和qPCR扩增性能,提高低浓度模板检测灵敏度,同时对含有杂质样本的耐受能力较强,适用于多种检测场景。本产品支持快速扩增,45个循环可在35 min完成。此外,本试剂盒引入了dUTP/UDG系统,室温下即可发挥作用,消除由PCR产物导致的交叉污染,保证结果准确性。

适用范围

动物、植物、微生物DNA的探针法荧光定量PCR检测

特点

- 抗体封闭的热启动Taq DNA聚合酶,特异性高,灵敏度高,扩增效率高,适用物种范围广。
- 高效抗体封闭,支持引物、探针全预混,抗抑性较强,可用于血液、组织研磨液、拭子等样本的直扩测试。
- 支持快速扩增,45个循环可在35 min分钟完成。
- 使用dUTP/UDG防污染系统,有效防止PCR产物的交叉污染,数据准确。
- 可选配适用于不同机型的Universal Passive Reference Dye(调整加样误差引起的管间差异),校正孔间信号误差。

产品组成

Component	AQ732-01	AQ732-02	AQ732-03
2×PerfectStart® IV Fast Probe qPCR SuperMix UDG	1 ml	5×1 ml	15×1 ml
Universal Passive Reference Dye (50×)	40 µl	200 µl	600 µl
Nuclease-free Water	1 ml	5 ml	3×5 ml

推荐qPCR体系与条件 (以20 µl反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
Template	1pg~1 µg	as required
Forward Primer (10 µM)	0.4 µl	0.2 µM
Reverse Primer (10 µM)	0.4 µl	0.2 µM
TaqMan Probe (10 µM)	0.4 µl	0.2 µM
2×PerfectStart® IV Fast Probe qPCR SuperMix UDG	10 µl	1×
Nuclease-free Water	Variable	-
Total Volume		20 µl

*注意: 使用前务必彻底化冻并充分混匀,但需避免剧烈震荡产生过多气泡,反应体系中各组分的量可根据以下原则自行调整:



- 引物浓度：若体系中包含多对引物，通常每条引物终浓度为0.2 μM，可得到较好扩增效果，也可根据反应结果在0.1~0.5 μM内调整引物浓度。
- 探针浓度：若体系中包含多条不同荧光信号的探针，通常每条探针终浓度为0.2 μM，可在50~250 nM内调整。
- 模板稀释：qPCR反应灵敏度极高，模板加入量的准确程度对最终定量结果有很大影响，因此建议将模板稀释后加入到反应体系中；模板加入的体积可适当调整，但当模板类型为cDNA原液时，建议模板加入体积不超过反应体系总体积的1/10。

扩增程序（两步法）

1) 标准程序

步骤	温度	时间	循环数 (cycle)
预变性	95°C	5 min	1
变性	95°C	5 sec	} 40~45 cycles
退火/延伸 (信号采集)	60°C	15 sec	

2) 快速程序

步骤	温度	时间	循环数 (cycle)
预变性	95°C	20 sec	1
变性	95°C	1~5 sec	} 40~45 cycles
退火/延伸 (信号采集)	60°C	1~10 sec	

*注意：初次尝试请先进行预实验确认使用的荧光定量PCR仪是否支持快速程序，此外考虑到不同机型的升降温速率不同，建议45个循环的总扩增时间不低于30 min。

Universal Passive Reference Dye适用机型

- ABI Prism 7000/7300/7700/7900, ABI Step One, ABI Step One Plus, ABI 7900HT, ABI 7900HT Fast; ABI Prism 7500, ABI Prism 7500 Fast, ABI QuantStudio Dx/3/5, ABI QuantStudio 6/7/12K Flex, ABI ViiA 7, Stratagene Mx3000P/Mx-3005P/Mx4000

No Passive Reference Dye

- Roche LightCycler 480, Roche Light Cycler 96, MJ Research Chromo4, MJ Research Opticon 2, Takara TP-800, Bio-Rad iCycler iQ, Bio-Rad iCycler iQ5, Bio-Rad CFX96, Bio-Rad C1000 Thermal Cycler, Thermo Scientific Pikoreal 96, Qiagen Corbett Rotor-Gene 6000, Qiagen Corbett Rotor-Gene G, Qiagen Corbett Rotor-Gene Q, Qiagen Corbett Rotor-Gene 3000, Mastercycler ep realplex

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1.0-2024.05

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

