

PerfectQ Universal Green qPCR Premix

组分	AC401A	AC401B
PerfectQ Universal Green qPCR Premix	1ml*5	1ml*50
Rnase-free Water	1ml*5	1ml*50

产品简介

特点:

高扩增效率 高灵敏度

适用范围:

荧光定量 PCR

保存条件: -20°C 避光保存

本产品是使用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 qPCR 的专用试剂。核心组分 Perfect Start DNA Polymerase 是基于化学法修饰的热启动 DNA 聚合酶，配合针对 qPCR 优化的最适 Buffer，可以有效抑制非特异扩增，从而显著提高扩增效率，适用于进行高灵敏度的 qPCR 反应。本产品是一种含有 qPCR 反应最适浓度 SYBR Green I 的 2x 预混试剂，可以在广泛的定量区域内得到良好的标准曲线，对靶基因进行准确定量、检测，重复性好，可信度高。本产品中含有特殊的 ROX Passive Reference Dye，适用于所有 qPCR 仪器，无需在不同仪器上调整 ROX 的浓度，只需在配制反应体系时加入引物和模板即可进行扩增。

适用机型

Bio-Rad CFX96™, CFX384™, iCycler iQ™, iQ™5, MyiQ™, MiniOpticon™, Opticon®, Opticon 2, Chromo4™; Cepheid SmartCycle®; Eppendorf Mastercycle® ep realplex, realplex 2 s; Illumina Eco qPCR; Qiagen/Corbett Rotar-Gene®Q, Rotor-Gene® 3000, Rotor-Gene® 6000; Roche Applied Science LightCycler™ 480; Thermo Scientific PikoReal Cycler; Applied Biosystems 5700, 7000, 7300, 7700, 7900, 7900HT, 7900HT Fast; StepOne™, StepOnePlus™; Applied Biosystems 7500, 7500 Fast, ViiA™7; Stratagene MX4000™, MX3005P™, MX3000P™。

注意: 本产品使用特殊的 ROX Passive Reference Dye，适用于所有 qPCR 仪器（无 ROX 校正仪器，低浓度 ROX 校正仪器，高浓度 ROX 校正仪器），无需在不同仪器上调整 ROX 的浓度。

注意事项

1. 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。
2. 本产品中含有 SYBR Green I 荧光染料和 ROX 染料，保存本产品或配制 PCR 反应液时应避免强光照射。
3. 如需频繁使用，可存放于 2-8°C，尽量避免反复冻融，反复冻融可能使产品性能下降。

使用方法

1. 在 qPCR 管中配制如下混合液(以 20ul 反应体系为例)。

试剂	20ul 体系
PerfectQ Universal Green qPCR Premix	10 ul
Forward Primer, 10uM	0.4ul
Reverse Primer, 10uM	0.4ul
Template DNA /cDNA	Xul
Rnase-free Water	up to 20ul

注意: 反应体系中各组分的量可根据以下原则自行调整:

- a. 一般来说, 反应体系中引物终浓度为 0.2uM 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 0.1-1.0uM 范围内调整引物浓度。
- b. qPCR 灵敏度极高, 建立反应体系时加入模板量的准确程度对最终定量结果会有很大的影响。推荐将模板稀释后加入反应体系中, 这样可以有效提高实验的重复性。
- c. 如模板类型为未稀释 cDNA 原液, 使用体积不应超过 qPCR 反应总体积的 1/10。

2. 按下列条件进行 qPCR 反应

步骤	温度	时间
预变性	95°C	5min
变性	95°C	10s }
退火/延伸 ¹⁾	60°C	30s }
溶解曲线分析 ²⁾		
	95°C	15s
	60°C	1min
	95°C	15s

注意: a. Perfect Start DNA Polymerase 需要热激活处理以恢复酶活, 请至少设置 PCR 反应预变性条件为 95°C 5min。如果模板的 GC 含量较高, 可将预变性时间延长至 10min。。

b. 延伸时间请根据使用的 Real-time PCR 仪所需要的数据采集最短时间限制自行调整使用 ABI 7700 和 7900HT 时至少 30s; 使用 ABI 7000 和 7300 时至少 31s; 使用 ABI 7500 时至少 34s; 使用 ABI StepOnePlus™ 时至少 10s。

c. 仪器类型不同, 融解曲线采集程序不尽相同, 使用仪器默认融解曲线采集程序即可。