

## UltarStart AccuProbe<sup>®</sup> qPCR Master Mix

货号：A604

保存：-20℃避光保存两年

| 货号      | 规格     |
|---------|--------|
| A604-01 | 5 ml   |
| A604-02 | 5×5 ml |

### 【产品概述】

本产品是采用探针法进行Real Time PCR (qPCR) 检测的试剂。核心组分是基于抗体法封闭的热启动DNA聚合酶，配合针对qPCR优化的反应缓冲液，实现了对PCR抑制物耐受性高、扩增特异性高、扩增效率高、检测灵敏度高等特点。本产品是2×浓度的Premix型试剂，配制qPCR反应体系十分简便。同时，本产品使用UDG酶和dUTP有效防止PCR产物的交叉污染，数据更准确。使用时只需加入模板、引物、探针、ROX Reference Dye (根据qPCR仪选择) 和水，使其工作浓度为1×，即可进行反应。此外，本产品适用于快速PCR，可以在宽广的动态范围内对靶基因进行准确定量，检测重复性好，可进行可信度高的Real Time PCR分析。

- 使用抗体法封闭的热启动酶，提高灵敏度，增强特异性
- 使用dUTP和UDG酶，可有效排除先前扩增产物的交叉污染，数据更准确
- 针对qPCR优化的反应缓冲液，增强特异性，提高扩增效率，重复性好，可信度高
- 配有适用于不同机型的ROX Reference Dye (调整PCR加样误差引起的管间差异)，数据准确

### 【产品组成】

| Component                                           | A604-01   | A604-02   |
|-----------------------------------------------------|-----------|-----------|
| 2×UltraStart AccuProbe qPCR Master Mix <sup>a</sup> | 4×1.25 ml | 5×A604-01 |
| 50×ROX Reference Dye I <sup>b</sup>                 | 200 μl    |           |
| 50×ROX Reference Dye II <sup>b</sup>                | 200 μl    |           |

a. 包含热启动酶，UDG酶，dNTPs，dUTP，Mg<sup>2+</sup> 等

b. 用以校正孔与孔之间产生的荧光信号误差。不同机型ROX Reference Dye使用情况参见下表：

|                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 无需添加<br>ROX Reference Dye          | Bio-Rad iCycler CFX96, CFX384, iQ, iQ5, MyiQ, Opticon, Opticon 2, MiniOpticon, Chromo4;<br>Qiagen Corbett Rotor-Gene Q, Rotor-Gene 3000, Rotor-Gene 6000;<br>Eppendorf Mastercycler ep realplex, realplex 2 s;<br>Roche Applied Science LightCycler 480;<br>Thermo Scientific PikoReal Cycler;<br>Cepheid SmartCycler;<br>Illumina Eco qPCR;<br>Takara TP-800. |
| 添加ROX Reference Dye I<br>(终浓度为1×)  | Applied Biosystems 7000, 7300, 7700, 7900, 7900HT, 7900HT Fast; StepOne, StepOnePlus.                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 添加ROX Reference Dye II<br>(终浓度为1×) | Applied Biosystems 7500, 7500 Fast, ViiA7, QuantStudio 3, QuantStudio 5, QuantStudio 6, Stratagene MX3000P, MX3005P, Mx4000.                                                                                                                                                                                                                                   |

### 【推荐qPCR体系（以20 $\mu$ l反应体系为例）】

| Component                              | Volume      | Final Concentration |
|----------------------------------------|-------------|---------------------|
| 2×UltraStart AccuProbe qPCR Master Mix | 10 $\mu$ l  | 1×                  |
| 10 $\mu$ M Forward Primer              | 0.4 $\mu$ l | 0.2 $\mu$ M         |
| 10 $\mu$ M Reverse Primer              | 0.4 $\mu$ l | 0.2 $\mu$ M         |
| 10 $\mu$ M Probe                       | 0.6 $\mu$ l | 0.3 $\mu$ M         |
| 50×ROX Reference Dye (optional)        | 0.4 $\mu$ l | 1×                  |
| PCR-grade Water                        | Variable    | -                   |
| Template                               | Variable    | As Required         |
| Total Volume                           | 20 $\mu$ l  | -                   |

反应体系中各成分的量可根据以下原则进行调整：

- 反应体系中引物终浓度为0.2  $\mu$ M即可得到较好的扩增效果。当反应性能较差时，可以在终浓度0.1 - 0.5  $\mu$ M范围内进行调整
- 使用的探针浓度，根据使用的Real Time PCR扩增仪及探针的荧光标记物不同而不同，请参照仪器说明书及探针附带的说明书调整探针使用量。通常探针终浓度在0.1 - 0.5  $\mu$ M范围内进行调整
- qPCR灵敏度极高，建立反应体系时加入模板量的准确度对最终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
- 如模板为未稀释cDNA原液，使用体积不应超过qPCR反应总体积的1/10

## 【PCR条件】

| Step                             | Temperature | Duration | Cycles  |
|----------------------------------|-------------|----------|---------|
| UDG pre-treatment                | 25°C        | 3 min    | 1       |
| Enzyme activation                | 95°C        | 3 min    | 1       |
| Denaturation                     | 95°C        | 10 sec   | 40 - 45 |
| Annealing/Extension <sup>a</sup> | 60°C        | 30 sec   |         |

a. 退火/延伸温度根据不同的引物和探针需要进行优化，推荐优化的温度范围为58°C - 65°C。退火/延伸时间请根据您使用的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7900时至少30秒；使用ABI 7000和7300时至少31秒；使用ABI 7500时至少34秒。

## 【注意事项】

- 本品尽量避免反复冻融，以免酶活下降。如每次使用量较少，推荐分装后使用
- 使用前请上下颠倒混匀预混液，请勿涡旋以免产生过多气泡引起反应体系体积变化，进而影响定量结果。预混液经混匀瞬时离心后即可使用
- 2×UltraStart AccuProbe qPCR Master Mix于-20°C保存时，有时会形成沉淀。在室温短时间放置后，颠倒混匀即可完全溶解。确保试剂混合均匀后再使用
- 由于本品检测灵敏度极高，在配制过程中请使用干净灭菌枪头、反应管，条件容许的实验室推荐使用专用的移液器，避免污染

## 【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。



■ 蓉为基因/Exongen Biotech Co., Ltd  
■ 咨询热线/400-0800-717  
■ 技术支持/support@exongen.com

■ 网址/www.exongen.com  
■ 销售/sales@exongen.com  
■ 售后/service@exongen.com