

Realtime PCR PreMIX (高 ROX)

(适用高 ROX 仪器)

本产品货号为 A2010A012 和 A2010A012X5

| 组分货号 | 名称 | A2010A012 | A2010A012X5 |
|-------------|-------------|-----------|-------------|
| A2010A012-1 | qPCR Premix | 1mL | 5X1mL |
| A2010A012-2 | ROX 染料 | 40ul | 200ul |
| | DEPC 水 | 1mL | 5X1mL |
| | 说明书 | 1 份 | 1 份 |

产品介绍

本产品由 qPCR Premix 和独立的 ROX 染料, DEPC 水, 三个组分组成。

qPCR Premix 含有优化浓度的 Fast HSTaq DNA Polymerase、SYBR Green I、dNTPs、Mg²⁺、反应缓冲液和稳定剂等成分。Fast HSTaq DNA Polymerase 高温加热前, 抗 Taq 单克隆抗体与 Taq 结合, 抑制 Taq 的聚合酶活性, 从而抑制在低温条件下出现的由引物和模板 DNA 非特异性杂交或引物二聚体引起的非特异性扩增。抗体在 PCR 反应的预变性步骤中已完全失活, 不会阻碍之后 Taq 酶聚合反应, 大大提高了 PCR 反应的灵敏度及特异性。优化浓度的 SYBR Green I 荧光染料掺入 DNA 双链后, 荧光信号增强, 而不掺入链中 SYBR Green I 染料分子荧光信号不变, 从而保证荧光信号的增加与 PCR 产物的增加完全同步, 荧光可以在退火或延伸阶段测定。

按照如下体系配置 ROX 染料, 可以适用于需要 High ROX 校正的仪器: ABI Prism7000/7300/7700/7900, Eppendorf, ABI Step One/Step One Plus 等。

使用说明

- 1) 从冰箱中取出本产品, 室温融化后轻轻震荡混匀, 1000rpm 简短离心 10 - 15 秒。
- 2) qPCR 反应体系配制: 请参考以下方式配制体系:

| qPCR 反应体系 | 体积(μL) | 终浓度 | 备注 |
|-----------------|--------|-------|------------------|
| qPCR Premix(2X) | 10 | | BioTNT A2010A011 |
| 上游引物(10μM) | 0.4 | 0.2μM | 可由引物初始浓度调整 |
| 下游引物(10μM) | 0.4 | 0.2μM | 可由引物初始浓度调整 |
| 样本 cDNA/阳参/阴参 | 1 | | 待检样品 |

| | | | |
|--------------|------|----|------------|
| ROX 染料 | 0.36 | 1X | |
| RNase-free 水 | 补足 | | 补足总体积 20μL |
| 总体积 | 20 | | |

20 μL PCR 反应体系下推荐, 2 - 500ng 基因组 DNA, 10pg - 50ng 质粒或环状 DNA, 2 - 20ng cDNA

- 3) 按照以上方式使用本产品进行 qPCR 实验可应用在市场现存的以下各种 qPCR 仪器:

需要 High ROX 校正的仪器: ABI Prism7000/7300/7700/7900, Eppendorf, ABI Step One/Step One Plus 等。

| 操作步骤 | 两步法反应条件* | | 三步法反应条件** | | |
|--------|----------|----------|-----------|----------|-----------|
| | 温度 | 时间 | 温度 | 时间 | |
| 预变性*** | 95°C | 5minutes | 95°C | 5minutes | |
| 40 个循环 | 变性 | 95°C | 5seconds | 5seconds | |
| | 退火 | 60°C | 30seconds | 55°C | 20seconds |
| | 延伸 | | | 72°C | 20seconds |
| hold | 4°C | hold | 4°C | hold | |

*当引物 Tm 值 ≥ 60°C, 扩增产物 < 300bp 时, 推荐两步法反应条件;

**当引物 Tm 值 < 60°C, 扩增产物 > 300bp 时, 推荐三步法反应条件;

***本 mix 采用的是 hot start 抗体 taq 酶, 该酶保证了 Real-Time PCR 实验的特异性, 并降低了实验操作难度(反应液配制时不需要在冰上操作, 加样时间即使比较长, 非特异性反应很少), 必须有 95°C 5 分钟这一步, 否则会导致后面的反应不能进行, 没有信号检测出;

自备设备和试剂

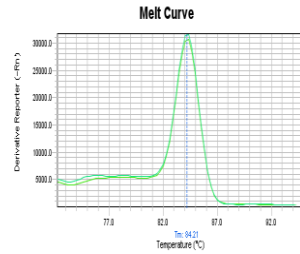
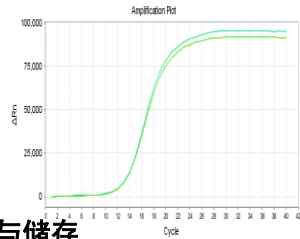
- 1) 模板: cDNA, 基因组 DNA, 质粒 DNA, 噬菌体 DNA;
- 2) 上下游引物, 推荐 BioTNT® Preci® mRNA qPCR Primer Pair;
- 3) BioTNT® Preci® qPCR Positive Control
- 4) RNase-free Water;
- 5) 96 孔或 384 孔 PCR 板; 0.2mL 或 0.5mL Eppendorf 管 (无菌、无酶、RNase-free);
- 6) 移液器 (10 μL、200 μL 规格) 及 RNase-free Tips (10 μL、200 μL 的枪头);
- 7) Real-Time PCR 仪; 13000rpm 离心机;

PCR 结果判断

1、扩增曲线为 s 型, 如下左图所示:

2、熔解曲线为单峰, 且峰的 Tm 值与产物理论 Tm 相差在 ± 2°C 以内, 如下右图所示:

注: 引物设计软件报告会通过计算 CG 含量以及序列位置得到理论 Tm 值, 实验所得熔解曲线峰所对应的 Tm 值会因为仪器的不同而变化, 但变化不会超过 ± 2°C, 如果相差过大, 可能并不是目的基因的产物。



运输与储存

- 1) 冰袋或干冰运输, 收到后立即贮存于 -20°C 。
- 2) -20°C 储存, 有效期为 6 月。
- 3) 可多次冻融。不多于 6 次冻融。

质量标准 (QC)

经 BioTNT BALB/c 小鼠核酸通用 PCR 阳性模板验证合格的基因引物, 其适用于几乎所有 BALB/c 小鼠样本的 PCR 扩增, 并且其熔解曲线呈特异性单峰, 可以相当准确地显示目的基因的表达水平。如果客户的引物经本产品验证不合格, 推荐您购买 BioTNT 引物, 为您节省很多宝贵的精力和时间。

技术支持

- 1) BioTNT 为其所提供的技术支持质量和效率而自豪。技术支持部门在样品及检测领域及对 BioTNT 产品具有丰富的实践经验和充足的理论知识。如果您 PCR 或其它产品有问题或遇到困难, 请联系我们, 无需迟疑。
- 2) BioTNT 客户是我们产品改进和特殊应用信息的主要来源。您所提供的信息对于 BioTNT 的研究人员很有帮助。当您对产品性能或新的应用及新的技术有任何建议时, 我们希望您能及时联系我们。
- 3) 有关技术支持和更多信息, 请浏览 www.biotnt.com 或致电 BioTNT 技术支持部门。

BioTNT 配套试剂

| 品名 | 货号 | 规格 |
|--------------------------------------|------------|---------|
| BioTNT® Preci® mRNA qPCR Primer Pair | PRIM1 | 500test |
| BioTNT® Preci® qPCR Positive Control | | 20uL |
| RNA 极速抽提试剂盒 | A2010A110 | 50T |
| TRIzol®RNA 提取试剂盒 | A2010A0401 | 50T |
| cDNA 第一链合成 RNA 逆转录试剂 | A2010A0601 | 50T |

更多产品规格请登录 www.biotnt.com 查询

注意事项

- 1) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴防护手套操作。
- 2) 如需更详细信息, 请向产品供应商咨询相关的材料安全数据书。

使用限制

产品可以登陆冠泰生物商城订购: 请扫描以下图标。



产品由上海冠泰生物科技有限公司提供。