

Realtime PCR PreMIX (低 ROX) (适用低 ROX 和无 ROX 仪器)

货号	规格
A2010A011	1mL PCR mix , 1mL DEPC 水
A2010A011×5	5X1mL PCR mix ,5X1mL DEPC 水
说明书	1 份

产品介绍

本产品含有优化浓度的 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。

本产品为 2×浓度预混实时荧光定量快速 PCR 反应体系 (含 Low ROX), 使用时只需加入模板、引物和水, 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、降低污染几率。

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:

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
RNase-free 水	5		补足总体积 20μL
总体积	20		

50-μL PCR 反应体系下推荐, 0.5 - 500ng 基因组 DNA, 1pg - 50ng 质粒或环状 DNA, 1 - 20ng cDNA

- 3) 使用本产品进行 qPCR 实验可广泛应用在市场现存的以下各种 qPCR 仪器:

不需要 ROX 校正的仪器: Roche LightCycler 480, Roche LightCycler 96, Bio-rad iCycler iQ, iQ5, CFX96 等。请在分析的时候 passive reference 选择 None;

需要 Low ROX 校正的仪器: ABI Prism7500/7500 Fast, QuantStudio 3 System, QuantStudio 5 System, QuantStudio 6 Flex System, QuantStudio 7 Flex System, ViiA 7 system, Stratagene Mx3000/Mx3005P, Corbett Rotor Gene 3000 等。请在分析的时候 passive reference 选择 ROX;

需要 High ROX 校正的仪器: ABI Prism7000/7300/7700/7900, Eppendorf, ABI Step One/Step One Plus 等。请购买 biotnt 的 A2010A012 货号产品。

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	5 minutes	95°C	5 minutes	
40 个循环	变性	95°C	5 seconds	95°C	5 seconds
	退火	60°C	30 seconds	55°C	20 seconds
	延伸			72°C	20 seconds
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 (10μL、200μL 规格) 及 RNase-free Tips (10μL、200μL 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。

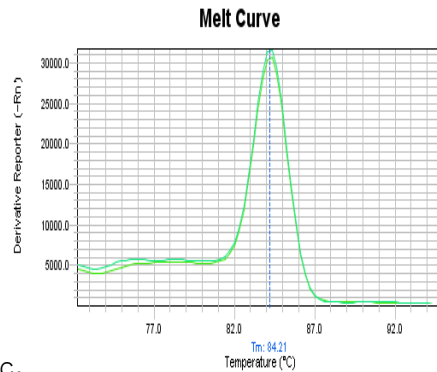
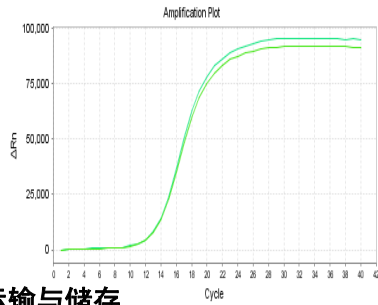
使用限制

本产品只用于分子生物学研究。不能应用于诊断、预防和治疗疾病。

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。



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	500 test
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。