

2×Universal qPCR Master Mix

货号：PMK2003MU

保存：-20℃保存，有效期12个月。

规格：1ml/5*1ml。

用途：适用于SYBR Green嵌合荧光法进行qPCR。

产品简介：

2×Universal qPCR Master Mix是使用SYBR Green I嵌合荧光法进行qPCR的2×试剂。主要成分包括抗体修饰的热启动Fast Taq DNA Polymerase、dNTP、Mg²⁺、SYBR Green I和针对qPCR优化的最适Buffer。本品中添加了耐热性RNase H，可以消除由于cDNA中残存RNA对PCR反应造成的抑制，可提高低拷贝模板的检出率。另外预混液体系中还添加了特殊ROX Reference Dye，适用于不同qPCR仪器，配置反应体系时只需加入引物和模板即可扩增。本产品可在宽广的定量区域内获得良好的标准曲线，实验结果重复性好、可信度高。

产品组成：

组分	PMK2003MU-1	PMK2003MU-5
2×Universal qPCR Master Mix	1ml	5*1ml

操作步骤：

1. 配制检测试剂

A.按照下表配置 PCR 反应体系(注：配置多个反应孔时，请为各组分预留 10%的余量，以免移液损失)

试剂	20ul体系	50ul体系
2×Universal qPCR Master Mix	10ul	25ul
Forward Primer(10μM)	0.4ul*	1ul*
Reverse Primer(10μM)	0.4ul*	1ul*
模板 DNA/cDNA	X ul**	X ul**
DNase-free Water	As required	As required
Total Volume	Up to 20ul	Up to 50ul

*通常每条引物终浓度为0.2μM，也可根据情况在0.1~0.4μM间进行调整。

**微量体积加样时误差大，建议模板稀释后再加入反应体系中，这样可以有效提高实验的重复性；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。

B. 反应体系配好后，盖好反应盖，充分涡旋混匀，离心，避免产生气泡。

2. 反应程序设置

标准程序

Stage	步骤	温度	时间	循环数
Stage1	预变性/酶激活	95℃	30sec	1
Stage2	变性	95℃	15sec	40
	退火/延伸/采集信号	60℃	40sec*	
Stage3	熔解曲线	仪器默认设置		1

快速程序

Stage	步骤	温度	时间	循环数
Stage1	预变性/酶激活	95℃	30sec	1
Stage2	变性	95℃	2sec	40
	退火/延伸/采集信号	60℃	20sec*	
Stage3	熔解曲线	仪器默认设置		1

*延伸时间请根据您使用的Real Time qPCR仪数据采集最短时间限制以及PCR产物长度自行调整。

*模板拷贝数较低时采用标准程序可提高数据的重现性。

结果分析:

定量检测至少需要三个生物学重复, 反应结束后需要确认扩增曲线的线形, 熔解曲线的峰形。

1. 扩增曲线: 标准扩增曲线为S型。

Ct值小于10, 需要将模板稀释后, 重新进行实验(每稀释一倍, Ct值增大1);

Ct值30-35之间时, 需要提高模板浓度, 或者增大反应体系的体积, 以提高扩增效率, 保证结果分析的准确性;

Ct值大于35时, 检测结果不可信。

2. 熔解曲线:

熔解曲线单峰, 表明反应特异性好可以进行定量结果分析; 若熔解曲线出现明显双峰或者多峰, 则不能进行定量分析, 需要重新设计引物。

注意事项:

1. 请于使用前确保产品完全解冻, 彻底混匀后短暂离心, 置于冰上备用。
2. 多次反复冻融可能会影响产品性能。
3. 本产品中含荧光染料SYBR Green I, 使用中应尽量避免强光照射。
4. 本试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品:

PMK1300 考马斯亮蓝蛋白胶快速染色液

PMK053 GAPDH mAb-HRP conjugated

PMK0312 抗体稀释液

PMK1700 PBST 缓冲液

PMK1020 IPTG 溶液(50mg/ml)

PMK1010 30%丙烯酰胺(29:1)

PMK1070 5×Tris-甘氨酸电泳缓冲液

PMK0012 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒

更多产品详情了解, 请关注公众号:

