

## Universal Probe qPCR Mix (2x)

### 简介

Universal Probe qPCR mix (2 x) 是基于独特的双组份热启动 Taq 聚合酶开发的实时定量 PCR 用 2x 预混液。本产品已包含除引物和样品 DNA 以外的所有荧光定量 PCR 组分，可减少操作步骤，缩短加样时间，降低了污染几率，适用于以 cDNA 或 DNA 为样品的 TaqMan 探针法检测。本产品含有独特校正染料，与一系列 qPCR 设备兼容，包括需要 ROX 校正的仪器，实验操作过程中不需要额外添加染料来校正仪器。

### 产品组成

产品编号	MD80302
反应次数(20 µl)	5 × 100 次
Universal Probe qPCR Mix (2x)	5 × 1ml

### 保存条件

Universal Probe qPCR Mix (2 x) 冰盒运输，收到产品后请立即于-20°C 避光保存，有效期 18 个月。反应液融解后可在 4°C 避光条件下稳定存放一个月，尽量避免反复冻融。

### 注意事项

- 因反应液含预混有染料，其保存或反应体系配制过程应避免强光照射。使用前上下颠倒轻轻混匀预混液，请勿涡旋振荡混匀，避免产生过多气泡。
- 避免反复冻融预混液，开启后尽量在 3 个月内使用完毕。
- 预混合液含有 ROX 校正染料，适用于所有机型，无需额外添加染料。


### 使用方法

#### 1. 建议 qPCR 反应体系

试剂	使用量	终浓度
Universal Probe qPCR Mix (2x)	10 µl	1x
正向引物 (10 µM) <sup>a</sup>	0.4 µl	0.2 µM
反向引物 (10 µM) <sup>a</sup>	0.4 µl	0.2 µM
TaqMan 探针 (5 µM) <sup>b</sup>	1 µl	0.25 µM
模板 DNA <sup>c</sup>	X µl	10~200 ng
ddH <sub>2</sub> O	To 20 µl	

- 引物推荐终浓度为 0.2µM, 效果不佳时可以在 0.1~1µM 进行调整。引物长度请设定 18~25bp，GC 含量为 40%~60%。最佳效率的扩增目标片段一般为 80~200bp，设计时应尽量避免发夹结构、二聚体等复杂结构，并尽可能横跨内含子区域。
- 探针终浓度推荐为 0.25µM, 效果不佳时在 0.1~1µM 进行调整。
- 模板添加量不应超过总反应体系的 10%，推荐加样量为 1~2 µl。不同种类 DNA 模板中含有的靶基因拷贝数目不同，必要时可进行梯度稀释，以确定最佳的 DNA 模板添加量。

#### 2. qPCR 反应程序（三步法，可根据机型适当调整）

步骤	温度	时间	循环
预变性	95°C	5min	
变性	95°C	10 sec	
退火延伸 <sup>c</sup>	60°C	30 sec	

40cycles