

货号: BR1E102

2×FastAmpli SYBR qPCR Premix (Universal ROX)

2025V01



试剂概述

FastAmpli SYBR qPCR Premix (Universal ROX)是采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 Real Time PCR 的专用试剂, 含有经基因改造筛选得来的可快速扩增的 DNA 聚合酶, 能在 30 min 内完成 PCR 反应; 使用抗体修饰法在常温下完全封闭 Taq 酶活性, 能够有效抑制常温条件下引物非特异性退火或者引物二聚体引起的非特异性扩增, 提高扩增反应的特异性; 采用了优化配方的 qPCR 专用 Buffer, 大大提高了 qPCR 反应的扩增效率和检测灵敏度, 可以在较宽的定量区域内得到良好的标准曲线, 准确进行定量。本产品含有通用型 ROX Reference Dye, 适应于所有 qPCR 仪器, 无需在不同的仪器上调整 ROX 的浓度, 只需在配制反应体系时加入引物和模板即可进行扩增。

试剂规格与组成

组分	BR1E102-40 100 rxns (20 μ L/rxn)	BR1E102-41 500 rxns (20 μ L/rxn)
2×FastAmpli SYBR qPCR Premix (Universal ROX)*	1×1 mL	5×1 mL
RNase-free ddH ₂ O	1×1 mL	5×1 mL

*本试剂含有 DNA 扩增酶、PCR Buffer、MgCl₂、dNTPs、SYBR Green I、ROX Reference Dye 等成分。

保存条件

-20℃避光保存。

注意事项

1. 本试剂仅供科学研究使用, 不得用于临床医学诊断及其他非合理用途。
2. 本试剂盒中试剂使用前请上下颠倒轻轻混匀, 尽量避免起泡, 并经短暂离心后使用。
3. 反应体系配制时请于超净工作台内进行, 配制过程中推荐使用专用的移液枪和带滤芯的枪头, 操作人员戴口罩和一次性手套并经常更换手套。
4. 本试剂盒中的各试剂应尽量避免反复冻融, 反复冻融可能使产品性能下降, 如每次使用量较少, 推荐小份分装使用。
5. 由于本品中含有荧光染料 SYBR Green I, 配制反应体系时应尽量避免强光照射。

qPCR 反应体系配制

试 剂	20 μ L 体系
2×FastAmpli SYBR qPCR Premix (Universal ROX)	10 μ L
Forward Primer (10 μ M) ¹	0.4 μ L
Reverse Primer (10 μ M)	0.4 μ L
Template DNA ²	—
RNase-free ddH ₂ O	To 20 μ L

1. 使用普通 PCR 程序扩增时, 通常引物终浓度为 0.2 μ M 可以得到较好结果; 反应性能较差时, 可以在 0.2~1 μ M 范围内调整引物浓度; 使用快速 PCR 程序扩增时, 适当提高引物浓度有可能获得更好的扩增结果。
2. 因不同物种的模板中含有的目的基因拷贝数不同, 可对模板进行梯度稀释, 以确定最佳的模板使用量。

反应条件

普通 PCR 程序			
步骤	温度	时长	循环数
预变性 ¹	95℃	30 s	1
变性 ²	95℃	10 s	40
*退火延伸 ³	56~64℃	30 s	
*熔解曲线分析 ⁴			

快速 PCR 程序			
步骤	温度	时长	循环数
预变性 ¹	95℃	1 min	1
变性 ²	95℃	1 s	40
*退火延伸 ³	56~64℃	10 s	
*熔解曲线分析 ⁴			

1. 预变性条件适合绝大多数扩增反应，标准程序选择 30 秒，快速程序最短可选 5 秒。如模板结构复杂，可将预变性时间延长至 3 分钟以提高预变性效果。
2. 变性：标准程序选择 10 秒；快速程序最短可选 1 秒。
3. 退火/延伸：标准程序选择 30 秒；快速程序：对于 200bp 以内的扩增子，延伸时间最短可设为 10 秒；超过 200bp 时，推荐延伸时间适当延长，退火延伸的温度根据设计的引物 T_m 值进行调整。
4. 熔解曲线分析请以所使用的荧光定量 PCR 仪推荐的程序进行设定，本程序是以宏石 SLAN-96S 荧光定量 PCR 仪为参照设定，熔解曲线阶段升降温速率为 0.06°C/s。
5. *标注处设置信号采集。

质量控制

1. 功能检测：qPCR 的敏感性、特异性、可重复性。
2. 无外源核酸酶活性，无外源内切、外切核酸酶污染。

技术说明

1. 本品所含快速 DNA 聚合酶的扩增速率不低于 1 kb/10 s。不同快速 PCR 仪其升降温速、控温模式、导热效率差异较大，建议结合具体快速 PCR 仪，进行其最适反应条件的优化。
2. 本试剂反应体系经过特殊配制，具有更高的特异性，能够显著提升荧光定量 PCR 极限检测的灵敏度，使极低浓度模板的扩增曲线归一性、荧光值获得明显改善，适合用作高灵敏度荧光定量 PCR 检测试剂。
3. 对于退火温度较低的引物或超过 200 bp 长片段扩增建议采用三步法。