

Version: AH 3.2 (2021.04.01修订)

2×Spark Universal Depolluting Probe qPCR Mix

目录号: AH0203

01/产品组分

序号	组分	AH0203 500 rxn (20μL/rxn)
1	2×Spark Universal Depolluting Probe qPCR Mix	1.25 mL×4

本产品使用特殊的ROX Reference Dye, 适用于所有qPCR仪器(无ROX校正仪器, 低浓度ROX校正仪器, 高浓度ROX校正仪器), 无需在不同的仪器上调整ROX的浓度:

Applied Biosystems 5700,7000,7300,7700,7900,7900HT,7900HT Fast, Step One, Step One Plus,7500,7500 Fast,ViiA™7
Stratagene MX4000,MX3005P,MX3000P
Bio-Rad iQ5,Chromo4,iCycler iQ,CFX96,CFX384,Opticon,Opticon 2,MyiQ,MiniOpticon
Eppendorf realplex 2s,Mastercycler ep realplex
Qiagen/Corbett Rotor-Gene Q,Rotor-Gene 3000,Rotor-Gene 6000
Roche LightCycler 2.0,LightCycler 96, LightCycler 480及其他qPCR仪

02/保存条件

本产品所有组分-20℃避光保存。

03/产品概述

本产品是使用探针法进行 qPCR 的专用试剂。核心成分 DNA Polymerase 是基于化学法修饰的热启动 DNA 聚合酶, 配合针对 qPCR 优化的最适 Buffer, 可以有效抑制非特异扩增, 显著提高扩增效率, 适用于高灵敏度的 qPCR 反应。试剂中引入了 dUTP/UDG 防污染系统,

可消除扩增产物污染对 qPCR 的影响。本产品是一种 2×Mix 试剂，可以在宽广的定量区域内得到良好的标准曲线，对靶基因进行准确定量，检测结果重复性好，可信度高。本产品中含有特殊的 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。

04/质量控制

纯度检测：所有组分经检测无核酸外切酶、核酸内切酶、核酸残留。

功能检测：以 HeLa 细胞总 RNA 的逆转录产物稀释液为模板，扩增 4 个基因，扩增曲线在批次间的产品中相近。用含 U 的 DNA 片段为模板，UDG 防污染系统的清除效率超过 95%。

05/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 本产品中含有特殊的 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。
- ◇ 建议 PCR 反应液在冰上配制，可以提高扩增特异性，减少背景。
- ◇ 请冰上融化后，轻轻上下颠倒，混合均匀，避免起泡，并瞬时离心后使用。

06/建议PCR条件（以ABI 7500为例）

以 ABI 7500 为例；以 10 μ L，20 μ L 反应体系为例，其他体系可以按照表格 Final Concentration 所示比例进行调整配制：

1. 配制PCR反应液：

Components	Volume (10 μ L)	Volume (20 μ L)	Final Concentration
2×Spark Universal Depolluting Probe qPCR Mix	5 μ L	10 μ L	1×
Forward Primer (10 μ M)	0.2 μ L	0.4 μ L	0.2 μ M each
Reverse Primer (10 μ M)	0.2 μ L	0.4 μ L	0.2 μ M each
TaqMan Probe (10 μ M)	0.1 μ L	0.2 μ L	0.1 μ M each
DNA/cDNA	X μ L	X μ L	as required
RNase Free H ₂ O	up to 10 μ L	up to 20 μ L	

▲ 反应体系中各成分的量可根据以下原则进行调整：

- 1) 一般来说反应体系中引物终浓度为 0.2 μ M 即可得到较好的扩增效果。当反应性能比较差时，可以在终浓度 0.1-1 μ M 范围内调整引物浓度。
- 2) 探针终浓度可以在 50-250 nM 之间调整，不能使用 ROX 标记的探针。
- 3) qPCR 灵敏度极高，建立反应体系时加入模板量的准确程度对最终定量结果会有很大的影响。推荐将模板量稀释后加入反应体系中，可以有效提高实验的重复性。
- 4) 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。

2. qPCR反应程序设置

Stage 1	污染消化	Reps: 1	37°C	2 min
Stage 2	预变性*1	Reps: 1	95°C	5 min
Stage 3	循环反应*2	Reps: 45	95°C	10 sec
			60°C	34 sec

1 DNA Polymerase 需要热激活处理以恢复酶活，请至少设置 PCR 反应预变性条件为 95°C 5 min；如果模板的 GC 含量较高，可将预变性时间延长至 10min。

2 延伸时间请根据使用的机型所需要的数据采集最短时间限制自行调整：使用 ABI 7500 时至少 34 sec；使用 ABI 7700 和 7900HT 时至少 30 sec；使用 ABI 7000 和 7300 时至少 31 sec；使用 ABI Step One Plus 时至少 10 sec。

07/相关产品

AC0101 SparkZol Reagent

AC0202 SPARKeasy 组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒（含基因组 DNA 清除柱）

AC1709 RNaseFree and DNase Free 纯水

AG0304 SPARKscript II RT Plus Kit（With gDNA Eraser）

AH0201 2×Spark Probe qPCR Mix

AH0202 2×Spark Depolluting Probe qPCR Mix

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

