

2× SYBR Premix UrTaq[®] II (Universal)

货号: R605

产品简介

本产品是采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 Real-time PCR 的专用试剂。2× SYBR Premix UrTaq[®] II 已经将热启动 *HS UrTaq[®] DNA* 聚合酶、SYBR Green I、dNTPs、稳定剂、优化的反应 buffer 等预混成即用型溶液,使用时只需加入模板、引物和水,便可在宽广的定量区域内得到良好的标准曲线,对目的基因进行准确定量检测,重复性好,准确性高。本品中核心组份为 *Hot-start UrTaq[®] DNA Polymerase*,具有内源启动、无动物源性污染、耐冻融和抗抑制的卓越性能,根据温度变化内源式动态调节 *UrTaq[®]* 酶活性,能最大限度的抑制 PCR 过程中非特异性扩增产物的产生,极大提高了荧光定量 PCR 反应的精确性。

预混液中含有独特校正染料,与一系列 qPCR 设备兼容,包括需要 ROX 校正的仪器,体系配制过程中不需要额外添加染料来校正仪器。

产品组成及包装量

组分	R605 (500rxn / 20 µl Reaction)
2× SYBR Premix UrTaq [®] II (Universal)	4×1.25 ml

储存及注意事项

- 1) -20°C 避光保存,如短期内频繁使用,推荐置于 4°C 保存并于一个月内使用完毕,避免长时间强光照射。
- 2) 使用前上下颠倒轻轻混匀 Mix,请勿涡旋振荡混匀,避免产生过多气泡。
- 3) Mix 中含有 Universal 校正染料,适用于所有机型,无需额外添加染料。

应用实例

1、反应体系配制

试剂	使用量	终浓度
2× SYBR Premix UrTaq [®] II (Universal)	10 µl	1×
Primer 1(10 µM) ^a	0.4 µl	0.2 µM
Primer 2(10 µM)	0.4 µl	0.2 µM
Template DNA ^b	X µl	10-200 ng/20 µl
ddH ₂ O	To 20 µl	-

*a) 通常引物终浓度为 0.2 µM 时即可得到较好的扩增结果,当反应效果不佳时,可以在终浓度 0.1 ~ 1.0 µM 范围内调整。

*b) 推荐模板加样量为 1-2 µl,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。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、PCR 反应循环的设置

两步法

Hold (预变性)	95°C	30 s	
2 Step PCR ^{*1}	95°C	10 sec	} 40 cycles
	60°C	30 sec	
Dissociation ^{*2}	使用不同仪器的默认熔解曲线采集程序即可		

三步法

Hold (预变性)	95°C	30 s	
3 Step PCR ^{*1}	95°C	10 sec	} 40 cycles
	55-65°C	10 s	
	72°C	30 sec	
Dissociation ^{*2}	使用不同仪器的默认熔解曲线采集程序即可		

*1 根据引物的 Tm 值进行退火&延伸 (退火) 温度的设定;若扩增片段在 200 bp 以内,退火&延伸 (延伸) 时间可以设置为 15 sec;此外,退火&延伸 (延伸) 时间的设置还需根据您使用的 qPCR 仪所需要的最短数据采集时间自行调整。

*2 不同 qPCR 仪的熔解曲线采集程序有差别,一般可使用仪器默认的熔解曲线采集程序。

3、实验优化

若使用默认反应条件反应性能不佳时,则需要对反应条件进行优化,可以从引物浓度以及扩增程序两个方面进行:

1) 引物浓度调整

当引物终浓度在 0.1~1.0 µM 范围之间变化时,引物浓度越低,扩增特异性越高,但扩增效率会有所下降。

2) 扩增程序优化

需提高扩增特异性,可使用两步法程序或提高退火温度;需提高扩增效率,可使用三步法程序或延长延伸时间。

