

产品概述

AcuGenix™ Robustart Probe qPCR Master Mix (Universal ROX)是采用探针法进行 Real Time PCR 定性、定量反应的专用试剂。含有常温下 Taq 酶活性被封闭的热启动酶 Robustart Taq,能够有效抑制低温条件下引物非特异性退火或者引物聚体引起的非特异性扩增,提高扩增反应的特异性。本试剂采用优化配方的 qPCR 专用 Buffer,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。本试剂中含有示踪染料,便于加样,且不影响荧光信号收集。本试剂与多数厂家的荧光定量 PCR 仪兼容,如 Applied Biosystems、Eppendorf、Bio-Rad 和 Roche 等。

试剂组成

组分	BR1E201-41 100 T (20 µL/T)	BR1E201-42 500 T (20 µL/T)
2×AcuGenix™ Robustart Probe qPCR Master Mix (Universal ROX)*	1×1 mL	5×1 mL

*本试剂已含有 Robustart Taq、PCR Buffer、MgCl₂、dNTPs、稳定剂等成分。

保存条件

-20±5℃避光存储。

适用范围

用于 DNA 样本的扩增定量,可扩增所有物种来源的 DNA,样本类型可以是基因组 DNA、cDNA、质粒 DNA、λDNA 等。

注意事项

1. 本产品仅作科研用途,不用于临床诊断。
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. 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。
4. 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。
5. 由于本品中含有荧光染料 Universal Rox,配制反应体系时应尽量避免强光照射。
6. 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,适合作为高灵敏度荧光定量 PCR 检测试剂。
7. 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。

qPCR 反应体系配制

试剂	加量
2×AcuGenix™ Robustart Probe qPCR Master Mix (Universal ROX)	10 µL
20×Primer Probe Mix ¹	1 µL
Template DNA ²	—
RNase-free ddH ₂ O	To 20 µL

1. 通常引物终浓度为 0.2 µM 可以得到较好结果;反应性能较差时,可以在 0.2-1 µM 范围内调整引物浓度。通常探针浓度在 0.1-0.3 µM 范围内优化。可进行浓度梯度的实验,寻找引物和探针的最佳组合。
2. 不同种类的 DNA 模板中含有的靶基因的拷贝数不同,必要时可进行梯度稀释,确定最佳的 DNA 模板添加量。

反应条件

步骤	温度	时长	循环数
预变性 ¹	95°C	1 min	1
变性	95°C	10 s	40
*退火延伸 ²	55°C	40 s	

1. 预变性条件适合绝大多数扩增反应，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. 超过 200 bp 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。
3. *标注处设置信号采集。

FAQ

1. 阴性对照中观察到扩增现象？

反应体系受污染：更换新的混合液、ddH₂O 和引物以重复实验。反应体系应在超净工作台中制备，以减少气溶胶污染。

2. 在绝对定量中，标准曲线的线性关系不理想？

- (1) 移液器偏差：增加模板的稀释倍数，并相应增加移液体积。
- (2) 模板降解：重新制备模板，重复实验。
- (3) 模板浓度过高：增加稀释倍数。