



2×RealStar Fast SYBR qPCR Mix (UNG, Low DNA)

2×RealStar Fast 染料法 qPCR 预混液 (UNG, 低背景)

版本号: V240501

货号: A302LD
保存: -20°C避光
运输: 低温

货号	规格
A302LD-01	1.1 ml
A302LD-05	1.1 ml×5
A302LD-10	1.1 ml×10

【产品概述】

本产品是采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行实时荧光定量 PCR 的新型防污染预混液。核心成分是高度纯化、无大肠杆菌基因组残留的热启动 DNA 聚合酶，搭配优化的反应 buffer，提高了扩增特异性和检测灵敏度，可对靶基因进行准确定量和检测。同时 qPCR 试剂中含有 dUTP/UNG 防污染系统，可有效防止 PCR 气溶胶污染。本产品在扩增细菌等微生物序列时可有效减少非特异性扩增和假阳性 PCR 产物，可对微生物序列高灵敏度检出。

本产品为 2×防污染预混实时荧光定量快速 PCR 反应体系，使用时只需加入模板、引物、ROX Reference Dye（根据不同荧光定量 PCR 仪选择使用）和水，使其工作浓度为 1×，即可进行反应。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点，可最大限度地减少人为误差、节约 PCR 实验操作时间、降低污染机率。

【产品组分】

组分货号	组分名称	A302LD-01	A302LD-05	A302LD-10
ZA302LD-101	2×RealStar Fast SYBR qPCR Mix (UNG, Low DNA)	1.1 ml	1.1 ml×5	1.1 ml×10
ZA320-101	High ROX Reference Dye	44 µl	220 µl	440 µl
ZA321-101	Low ROX Reference Dye	44 µl	220 µl	440 µl

注：不同仪器所需 ROX Reference Dye 不同：

需加 High ROX Reference Dye (50×)的机型: ABI Prism7000/7300/7700/7900HT 和 ABI StepOne /ABI StepOne Plus。

需加 Low ROX Reference Dye (50×)的机型: ABI Prism7500/7500 Fast, MJ Research Chromo4, Opticon (II), Corbett Rotor Gene 3000。

无需加 ROX Reference Dye 的机型: Thermal Cycler Dice Real Time System, LightCycler, Smart Cycler System, Corbett Rotor-gene 6000, Agilent Technologies Mx3000P 等荧光定量 PCR 仪。

【保存条件】

-20°C避光保存，保质期 24 个月，避免反复冻融。如果经常使用，可置于 4°C保存至少 3 个月。

【使用方法】

用户需自备的试剂：cDNA 或 DNA 模板、引物。

请按照不同品牌荧光定量PCR仪的使用说明书要求进行实验操作。

操作示例：分别以 20 µl 和 50 µl PCR 反应体系为例：

1. PCR 反应体系的建立：

组分	20 µl 体系	50 µl 体系
DNA模板 ^a	1 µl	1 µl
正向引物 (10 µM) ^b	0.5 µl	1 µl
反向引物 (10 µM) ^b	0.5 µl	1 µl
2×RealStar Fast SYBR qPCR Mix (UNG, Low DNA)	10 µl	25 µl
High/Low ROX Reference Dye ^c	0.4 µl	1 µl
Sterile Water	补足至 20 µl	补足至 50 µl

^a模板量：10-100 ng 基因组 DNA，或 1-10 ng cDNA 为参照，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。另外，Two Step RT-PCR 反应的 cDNA (RT 反应液) 作为模板时的添加量不要超过 PCR 反应液总体积的 10%。

^b引物：通常引物浓度以 0.2 µM 可以得到较好结果，可以终浓度 0.1-1.0 µM 作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下，可提高引物的浓度；发生非特异性反应时，可降低引物浓度，由此优化反应体系。为了获得理想的 qPCR 的效果，扩增片段的长度建议为 80-200 bp。

^c不同仪器所需 ROX Reference Dye 不同，或需要添加或不需要添加，请根据仪器说明进行操作。



2. PCR 反应条件的设置:

本制品中使用的GenStar Fast HSTaq DNA Polymerase是利用抗*Taq*抗体封闭的HotStart DNA聚合酶，如果在PCR反应前进行模板的预变性，通常设定为95°C 30 s，复杂或高GC模板适当延长至2-5 min。该DNA聚合酶在15 s内可完成至少300 bp的扩增。对于绝大多数的扩增子，以下快速程序即可满足qPCR实验；对于超过350 bp、高GC含量或者低表达的扩增子，建议增加延伸时间至30 s或者采用三步法以提高扩增效率。

两步法 PCR 扩增（快速程序）：

流程	温度	时间	循环数
UNG 酶处理	50°C	5 min	
预变性	95°C	30 s	
变性	95°C	3 s	40
退火/延伸	60°C	10 s	
溶解曲线（仪器自动设置）			

两步法 PCR 扩增（标准程序）：

流程	温度	时间	循环数
UNG 酶处理	50°C	5 min	
预变性	95°C	2 min	
变性	95°C	10 s	40
退火/延伸	60°C	30 s	
溶解曲线（仪器自动设置）			

注：以下举例为常规 qPCR 反应系统，仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据模板、引物、目的片段的特点设定最佳反应条件，并根据比例放大或缩小反应体系。

3. 在相应的 real time PCR 仪器上完成实验，并分析结果。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任，仅限于此产品的价值本身。