

## Probe qPCR Super Mix (BW-Q0102)

### 【组成成分】

名 称	BW-Q0102-00	BW-Q0102-01	BW-Q0102-02
Probe qPCR Master Mix*	1× 0.25 mL	4 × 1.25 mL	20×1.25mL

\* 包含 dNTP/dUTP Mix, Mg<sup>2+</sup>, Champagne Taq DNA Polymerase, Heat-labile UDG, pecific ROX Reference Dye。

### 【产品简介】

Probe qPCR Super Mix 是一种适用于荧光探针法进行核酸检测的专用预混液，只需额外加入引物、Taqman /MGB 探针、模板即可进行检测，使用方便。本预混液中已经将 DNA 聚合酶、精心优化的反应 Buffer、dNTPs 等试剂预混在一起，是一种 2×浓度的预混型试剂，进行实验时，PCR 反应液的配制十分方便简单，增加了在低浓度模板和复杂模板上的分型成功率。本产品引入了 dUTP/UDG 防污染系统，室温下即可发挥作用，清除体系中存在的污染，保证了分型结果的准确性。同时本产品中含有特殊的 ROX Passive 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。

### 【保存条件】

-30 ~ -15°C避光保存，≤0°C运输。

### 【适用范围】

本试剂用于 DNA 样本的扩增定量，可以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】

本产品仅供科学研究使用，不得用于临床医学诊断及其他非合理用途。

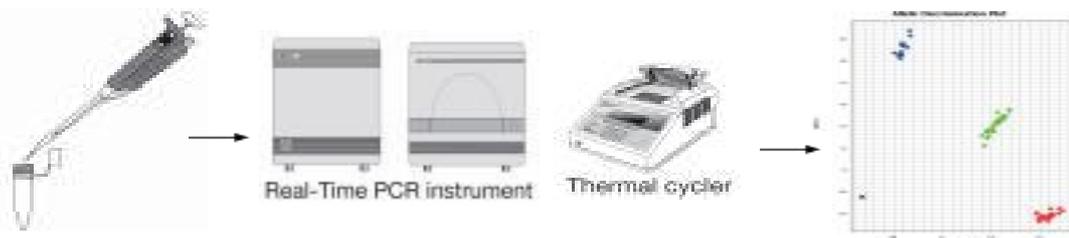


## 【实验流程】

配制 PCR 反应液

PCR 反应

终点信号的采集与结果分析



### 1. 配制 PCR 反应液

2 × Probe qPCR Master Mix	10 μl
Primer F (10 μM)	1.8 μl
Primer R (10 μM)	1.8 μl
TaqMan MGB Probe A (10 μM)	0.4 μl
TaqMan MGB Probe B (10 μM)	0.4 μl
template	1 - 10 ng
ddH <sub>2</sub> O	Up to 20 μl

1. 为了使用方便可以把引物和探针混合成 20 × assay (例如 100 μM Primer F 18 μl, 100 μM Primer R 18 μl, 100 μM Probe A 4 μl, 100 μM Probe B 4 μl, 用 TE 补齐至 100 μl 即 20 × assay), 推荐引物反应终浓度为 900 nM, 探针反应终浓度为 200 nM。

2. 因为 2 × Probe qPCR Master Mix 中包含特殊的 ROX, 因此不能使用 ROX 标记的探针。

3. 引物和探针可以购买 Taqman genotyping assay 或者通过专业的软件 (例如 Primer Express Software) 进行设计。

4. 每次实验均需要设置一定数目的无模板对照 (NTC) 和已知基因型的阳性对照

5. 如果混样完成后不能立刻进行 PCR 反应, 可以把混合完成的样品放入 2 ~ 8°C 避光环境中保存, 存放时间至多 72 h。

### 2. PCR 反应程序

	预变性	Reps: 1	95°C	30 sec
扩增	循环反应	Reps: 45	95°C	10 sec
			60°C	30 sec
采集	终点信号的采集	Reps: 1	60°C	30 sec

1. 热敏的 UDG 酶在室温条件下即可发挥功能, 在 PCR 程序设置前就可以进行工作, PCR 95°C 预变性时 UDG 酶失活。

2. 如果 PCR 扩增完成后不能立即进行终点信号采集, 可以将样品放入 2 ~ 8°C 避光环境中保存, 存放时间至多 72 h。



**【常见问题与解决方案】**

常见问题	原因	解决方案	
无信号或信号偏低	模板	1. 模板降解	琼脂糖凝胶电泳确认 DNA 是否降解。
		2. DNA 浓度不正确	重新测定 DNA 浓度。
		3. 模板中存在抑制剂	稀释 DNA 模板。
		4. DNA 模板投入太低	提高 DNA 模板投入量或者增加 PCR 循环数。
	试剂	1. 试剂过期	使用新批次试剂重复实验。
		2. 蒸发	样品混合完成后确保 PCR 孔密闭，PCR 混样完成后避免长时间存放，尽量立即上机采集信号。
		3. 样品没有加入 PCR 孔中	确保引物探针模板和扩增试剂均在 PCR 反应孔中。
		4. SNP 位点包含在引物序列中	通过 BLAST 序列比对确认引物区域中是否有 SNP 位点，如有必要重新设计引物。
	仪器	1. 报告 (Reporter) 基因选择错误	确认报告基团的采集通道是否正确并重新进行终点信号采集。
	信号杂乱无法成簇	模板	1. 模板中存在抑制剂
2. DNA 模板投入过低			提高 DNA 模板投入量或者增加 PCR 循环数。
仪器		1. 报告基团选择错误	确认报告基团的采集通道是否正确并重新进行终点信号采集。
		2. 未选择 ROX 信号	在需要进行 ROX 校正的仪器上选择 ROX 信号。
簇与簇之间信号相距太近	模板	1. 模板降解	琼脂糖凝胶电泳确认 DNA 是否降解。
	试剂	1. 探针降解	使用新批次的探针进行重复实验，确保包括引物探针和扩增试剂存储条件 是否正确。
		2. 探针设计	确保探针 T <sub>m</sub> 值在良好的范围内。
	仪器	1. 循环数过多	反应循环数不超过 45 个循环，如果循环数超过 45 个减少循环数。
聚簇效果差，信号存在拖尾	模板	1. DNA 浓度不正确	重新测定 DNA 浓度。
		2. 模板中存在抑制剂	稀释 DNA 模板。
		3. 模板投入量不一致	重新测定 DNA 浓度，确保 DNA 模板投入量在 1 - 10 ng。
	试剂	1. 试剂过期	使用新批次试剂重复实验。
		2. 蒸发	样品混合完成后确保 PCR 孔密闭，PCR 混样完成后避免长时间存放，尽量立即上机采集信号。
		3. 样品没有加入 PCR 孔中	确保引物探针模板和扩增试剂均在 PCR 反应孔中。
		4. PCR 上样前样品混合不充分	确保试剂混合完全，重复实验。
	仪器	1. 仪器没有校正	保证 PCR 仪器定期校正。
2. 未选择 ROX 信号		在需要进行 ROX 校正的仪器上选择 ROX 信号。	
NTC 信号偏高	试剂	1. 试剂存在污染	更换引物、探针、扩增试剂以及所有耗材，重复实验。
	仪器	1. 仪器存在荧光物质污染	对仪器进行清洁。

**【购买须知】**

根据说明书使用时，本产品保证性能符合产品标示和倍沃文献中的描述。倍沃不提供任何其他类型的明示或暗示保证，包括但不限于适销性或特定用途适用性等。倍沃对违反本保证的唯一义务和购买者的唯一补救措施是由倍沃选择更换产品。倍沃对因使用产品、使用产品结果或无法使用产品而引起的任何直接、间接、后果性或附带损害不承担任何责任。如需技术支持或了解更多产品信息，请致电 400-115-2855 与我们联系，或访问我们的网站 [www.beiwobiomedical.com](http://www.beiwobiomedical.com)





[www.beiwobiomedical.com](http://www.beiwobiomedical.com)

扫码了解更多

---

### 杭州总部

地址：浙江省杭州市余杭区余杭塘路 2636 号风尚智慧谷 1 幢 101 室

电话：0571-56391588 传真：0571-56390383

电子邮箱：[market@beiwobiomedical.com](mailto:market@beiwobiomedical.com)

浙江省杭州市余杭区余杭塘路 2636 号风尚智慧谷 1 幢 101 室

电话：0571-56391588；400-115-2855

<http://www.beiwobiomedical.com>

