

2×qPCR SHENmix（荧光探针法）

使用说明书

货号：SK030210Q

版本：A/4

仅供研究用

湖州申科生物技术股份有限公司

■ 试剂盒简介

2×qPCR SHENmix (荧光探针法) 是采用荧光探针法进行 qPCR 扩增 gDNA 或 cDNA 的预混试剂, 其中包含 DNA 聚合酶、dNTP、反应缓冲液和特异稳定剂等成分, 试剂盒单独提供参比荧光染料 100×ROX, 可根据实验需要稀释后添加。

PCR 反应液的配制十分方便简单, 只需要在 SHEN mix 中加入相应的引物、探针和模板即可。SHENmix 中含有经过专有技术修饰后的热启动 DNA 聚合酶, 可以较好地保证 qPCR 分析的准确性和重现性。

■ 试剂盒组份

表 1. 试剂盒组分

组份	产品号	装量	储存条件
2×qPCR SHENmix	NNC045	1 mL×5 管	-18℃及以下, 避光
100×ROX	NND006	50 µL×1 管	-18℃及以下, 避光

■ 规格:

1 mL。

■ 有效期:

规定储存条件下 24 个月, 具体见试剂盒标签。

■ 保存条件

- 试剂盒应-18℃及以下、避光保存, 尽量避免反复冻融。
- 100×ROX 解冻后于 2-8℃、避光保存。
- 2×qPCR SHENmix 如在短期内持续使用, 可于解冻后 2-8℃、避光保存, 且 3 个月内使用完毕。

■ 适用仪器

- ABI PRISM 7000/7700/7900HT, 7300/7500 定量 PCR 系统
- Mx3000PTM 定量 PCR 系统
- CFX96 定量 PCR 系统
- StepOne Plus Real-Time PCR System
- SHENTEK-96S 实时荧光 PCR 检测系统

■ 注意事项

试剂盒使用前认真阅读以下注意事项:

-  试剂盒应-18℃及以下、避光保存, 请勿反复冻融。
-  使用前请轻柔颠倒混合, 避免起泡, 并经轻微离心后使用。
-  试剂盒中含有荧光染料, 保存或使用时均应避免强光照射。
-  为保证体系反应效率, 所有相关的试验操作请在冰上进行。
-  若体系中需添加 ROX, 添加后应使其充分混匀。

■ 使用操作

1. 体系配制 (仅供参考)

1) 无需添加 ROX

表 2.体系配制示例-1

试剂组分	30 μ L 体系	终浓度
2 $\times$ qPCR SHENmix	15 μ L	/
Primer-F	1 μ L	100~500 nM
Primer-R	1 μ L	100~500 nM
Probe	1 μ L	100~500 nM
ddH ₂ O+模板	12 μ L	pg~ng
Total	30 μ L	/

2) 需添加 ROX

根据实际需要使用前可将 100 $\times$ ROX 用 ddH₂O 稀释, 如 10 $\times$ ROX。其终浓度根据所用仪器型号来设定。

表 3.体系配制示例-2

试剂组分	30 μ L 体系	终浓度
2 $\times$ qPCR SHENmix	15 μ L	/
Primer-F	1 μ L	100~500 nM
Primer-R	1 μ L	100~500 nM
Probe	1 μ L	100~500 nM
10 $\times$ ROX	1.5 μ L	0.5 $\times$
ddH ₂ O+模板	10.5 μ L	pg~ng
Total	30 μ L	/

- ❖ 反应液体积根据所用仪器具体要求而定，一般在 20 μL~50 μL 之间均可。
- ❖ 引物所用浓度随引物本身的质量及试剂不同而变化，一般在 0.2 μM~1 μM 之间调整，添加量的不同会影响体系扩增效率，添加量过多，则可能会由于非特异性扩增的原因，出现信号检出率低的情况。
- ❖ DNA 模板量通常在 100 ng 以下,过多的模板量会引起基线上飘。不同种类的 DNA 模板所含拷贝数不同，最佳使用量范围可由梯度稀释实验确定。

2. PCR 反应程序

请根据实际试验情况，选择适合的反应程序：

1) Two –step Real time PCR:

表 4.PCR 反应程序示例-1

CYCLES	STEP	TEMP	TIME
1	Initial denaturation	95°C	10 min
40	Denaturation	95°C	15 s
	Annealing/extension	60°C	60 s

2) Three-step Real time PCR:

表 5.PCR 反应程序示例-2

CYCLES	STEP	TEMP	TIME
1	Initial denaturation	95°C	10 min
40	Denaturation	95°C	15 s
	Annealing	60°C	30 s
	Extension	72°C	30 s

 初次使用未知引物时，请首先尝试三步法。退火温度根据引物的 Tm 值在 55°C~65°C之间进行调整。

修订时间：2023 年 01 月 16 日

服务支持



湖州申科生物技术股份有限公司

www.shenkebio.com

地址: 浙江省湖州市红丰路 1366 号 6 号楼

Email: Info@shenkebio.com

电话: 0572-2165910