货号：BR1E101

AcuGenix™ Robustart qPCR Master Mix (Universal ROX)

V04

产品概述

AcuGenix™ Robustart qPCR Master Mix (Universal ROX)是采用 SYBR Green Ⅰ 嵌合荧光法进行 Real Time PCR 的专用试剂，含有常温下完全封闭 Taq 酶活性的热启动酶，能够有效抑制低温条件下引物非特异性退火或者引物二聚体引起的非特异性扩增，提高扩增反应的特异性。本试剂采用了优化配方的 qPCR 专用 Buffer，大大提高了 qPCR 反应的扩增效率和检测灵敏度，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。本试剂中含有通用型 ROX 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，只需在配制反应体系时加入引物和模板即可进行扩增。

试剂组成

组分	BR1E101-01 500 T (20 μL/T)	BR1E101-02 2500 T (20 μL/T)
2×AcuGenix™ Robustart qPCR Master Mix (Universal ROX)*	5×1 mL	25×1 mL

*本试剂含有 DNA 扩增酶、PCR Buffer、$MgCl_2$、dNTPs、SYBR Green、Universal ROX Reference Dye 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，操作人员带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，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，适合用作高灵敏度荧光定量 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 qPCR Master Mix (Universal ROX)	10 μL
Forward Primer (10 μM)[1]	0.4 μL
Reverse Primer (10 μM)[1]	0.4 μL
DNA[2]	——
RNase-free ddH_2O	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 0.1-1.0 μM 范围内调整引物浓度。
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模板来确定最佳的添加量。

反应条件

普通 PCR 程序			
步骤	温度	时长	循环数
预变性 [1]	95℃	5 min	1
变性	95℃	10 s	40
*退火延伸 [2]	55℃	40 s	
*熔解曲线分析 [3]			

1. 预变性条件适合绝大多数扩增反应。
2. 退火/延伸：标准程序选择 30 秒；快速程序：对于 200 bp 以内的扩增子，延伸时间可设为 10 秒；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 Tm 值进行调整。
3. 熔解曲线分析请以所使用的荧光定量 PCR 仪推荐的程序进行设定。
4. *标注处设置信号采集。

FAQ

1. 阴性对照中观察到扩增现象？

(1) 反应体系受污染：更换新的混合液、ddH_2O 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) 引物二聚体：结合熔解曲线进行分析。

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。

3. 熔解曲线出现多个峰？

(1) 引物设计不当：根据引物设计原则重新设计并合成新的引物。
(2) 引物浓度过高：降低引物浓度。
(3) cDNA 模板受到基因组 DNA 污染：制备新的 cDNA 模板。