

YALEPIC[®] 通用型高灵敏 qPCR 预混液 UDG (染料法)

YALEPIC[®] Universal SYBR Green qPCR MasterMix (UDG)

产品货号: YQ51002

产品保存及运输条件: -20°C 避光保存, < 0°C 运输。

产品介绍

YALEPIC[®] Universal SYBR Green qPCR MasterMix (UDG) 是基于 SYBR Green I 染料法的 qPCR 的预混体系, 本产品核心组分是基于抗体修饰的热启动 DNA 聚合酶, 搭配针对低拷贝模板优化的缓冲液, 可以有效抑制非特异性扩增, 极大提升 qPCR 扩增效率以及检测灵敏度, 适用于高 GC 含量模板的扩增, 同时使用 UDG 酶和 dUTP 有效防止 PCR 产物的交叉污染。可应用于 SNP 分型, 基因表达分析, 药物靶点验证及疾病相关研究等。本产品浓度为 2 ×, 含有特殊的 ROX Reference Dye, 适用于所有 qPCR 仪器, 使用时只需加入模板、引物、ddH₂O, 使工作浓度为 1 ×, 即可进行反应。

产品组成

序号	组分	规格
①	2 × YALEPIC [®] Universal SYBR Green qPCR MasterMix (UDG)	5 × 1 ml
②	Nuclease-Free ddH ₂ O	5 ml

自备试剂/耗材/仪器

模板、引物、Nuclease-free PCR 板、八联排管、移液吸头等耗材; qPCR 仪器等。

实验流程

1. 使用试剂前确保彻底融化并混匀, 加入反应体系的其他组分应充分混匀 (参考下表):

组分	用量 (20 μl 体系)	Final Concentration
2 × YALEPIC [®] Universal SYBR Green qPCR MasterMix (UDG)	10 μl	1 ×
10 μM Forward Primer	0.4 μl	0.2 μM
10 μM Reverse Primer	0.4 μl	0.2 μM
Template	As required	/
Nuclease-free ddH ₂ O	Up to 20 μl	/

注：1) 由于本溶液含有荧光染料，因此保存预混液及配制反应体系时应尽量避免强光照射。2) 引物终浓度为 0.2 μM 即可得到较好的扩增效果。当反应性能较差时，可以在终浓度 0.1 ~ 0.5 μM 范围内进行调整；qPCR 灵敏度极高，Template 可稀释后加入反应体系，如模板为未稀释的 cDNA 原液，使用体积不应超过 qPCR 反应总体积的 1/10。

2. 盖好 PCR 管盖，瞬时离心。

3. qPCR 反应程序推荐：

95°C	3 min	1 cycle	UDG Incubation
95°C	5 sec	} 40 cycles	变性
60°C	30 sec		退火/延伸
Melt curve			仪器默认设置

根据 Real-time PCR 仪所需要的数据采集最短时间限制自行调整：

ABI 7700/7900 时，采集时间为 30 s；ABI 7000/7300 时，采集时间为 31 s；ABI 7500 时，采集时间为 34 s。

注意事项

1. 使用前请颠倒混匀预混液，瞬时离心后即可使用；
2. 如有沉淀析出，可在室温短时间放置后，涡旋混匀，完全溶解后使用；
3. 配制反应体系时应尽量避免强光照射；
4. 尽量避免反复冻融，以免酶活下降。

常见问题及解决方案

问题	解决方案
阴性对照中有信号产生	<ol style="list-style-type: none"> 1.模板或试剂被核酸污染: 在进行 PCR 反应前采取标准的预防措施, 以降低污染风险; 2.产生引物二聚体: 配合融解曲线进行分析。
融解曲线出现多个峰	<ol style="list-style-type: none"> 1.存在引物二聚体或其他特殊结构: 根据设计原则设计合成新的引物 ; 2.引物浓度太高: 适当降低引物浓度; 3.cDNA 模板带有基因组污染: 重新制备 cDNA 模板。
定量 PCR 无扩增曲线	<ol style="list-style-type: none"> 1.反应循环数不够: 一般设置循环数为 40; 2.确认程序中是否设置了信号采集步骤: 两步法扩增程序一般将信号采集设置在退火延伸阶段; 3.确认引物是否降解: 长时间未使用的引物可能发生降解, 合成新的引物, 重复实验; 4.模板浓度太低: 减少稀释度重复实验, 一般未知浓度的样品按最高浓度进行检测; 5.模板降解: 重新制备模板。
定量 PCR 扩增曲线不平滑	<ol style="list-style-type: none"> 1.信号太弱: 提高模板浓度重复实验 ; 2.定量 PCR 反应过程中体积变化: PCR 管未盖严导致反应体系蒸发。
Ct 值出现太晚	<ol style="list-style-type: none"> 1.扩增效率低: 优化反应条件, 或者重新设计合成引物; 2.模板浓度太低: 减少稀释度重复实验, 一般未知浓度的样品按最高浓度进行检测; 3.模板降解: 重新制备模板, 重复实验; 4.PCR 产物太长: 推荐 PCR 产物长度为 80 ~ 150 bp; 5.反应体系中存在 PCR 抑制剂: 一般为模板引入, 加大模板稀释倍数或重新制备模板, 重复实验。
实验重复性差	<ol style="list-style-type: none"> 1.加样体积不准确: 使用准确的移液器; 增加模板稀释度, 以大体积加入反应体系中; 2.模板浓度太低: 模板浓度越低, 重复性越差, 减少模板稀释度或提高加样体积; 3.定量 PCR 反应过程中体积变化: PCR 管未盖严导致反应体系蒸发。

本产品仅供研究使用, 请勿用于临床诊断。