

CAT#:GZ020702



2× Probe qPCR Master Mix (with ROX)

使用手册 V2.1

北生京泽（启东）生物科技有限公司
江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路 500 号
网址：www.bsgeneze.com；电话：40001-59600

💡 产品及特点

2× Probe qPCR Master Mix 是专用于探针法实时荧光定量 PCR 的预混体系，包含热启动 DNA Polymerase、PCR 优化的稳定剂和增强剂、dNTPs 和 Mg^{2+} ，操作简便，主要用于基因组 DNA 靶序列和 RNA 反转录后 cDNA 靶序列检测，如基因表达分析，拷贝数分析，SNP 基因型分析等，适用于不同类型探针法荧光定量。本产品为 2×预混荧光定量 PCR 反应体系，使用时只需加入模板、引物、ROX Reference Dye（用以校正孔与孔之间产生的荧光信号误差，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。它具有下列特点：

1. 高灵敏度：可以精确定量低拷贝模板；
2. 高特异性：最大限度的减少引物二聚体和非特异性产物；
3. 有效性：扩增效率高，CT 值更低。

📄 成分规格

产品组成	GZ020702-1	GZ020702-5
2× Probe qPCR Master Mix	1 ml	5×1 ml
50 × ROX Reference Dye I	40 μl	200 μl
50 × ROX Reference Dye II	40 μl	200 μl

➤ 保存条件

-20℃可保存 24 个月。

📖 使用方法

（注意：以下举例为常规qPCR 反应体系和反应程序，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化）

1. 根据以下表格配置反应体系，总体积为20 μl

试剂	用量	终浓度
2 × Probe qPCR Master Mix	10 μl	1 ×
正义引物 (10 μM)	0.5 μl	0.25 μM

反义引物 (10 μ M)	0.5 μ l	0.25 μ M
探针(10 μ M)	0.5 μ l	0.25 μ M
50 \times ROX Reference Dye I or II	0.4 μ l	1 \times
模板 DNA	x μ l	
ddH ₂ O	Up to 20 μ l	

注意:

- 1) 通常引物浓度以 0.25 μ M 可以得到较好结果, 可以在 0.1 ~ 1.0 μ M 作为设定范围的参考。
- 2) 使用的探针浓度, 与使用的荧光定量 PCR 仪、探针种类、荧光标记物质种类有关, 实际使用时请参照仪器说明书, 或各荧光探针的具体使用要求进行浓度的调节。
- 3) 通常 DNA 模板的量以 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。

需使用 ROX Reference Dye I 的机型: ABI Prism5700、7000、7300、7700、7900、7900HT、7900HT Fast、Step-One、Step-One Plus。

需使用 ROX Reference Dye II 的机型: ABI Prism 7500/7500Fast、ViiA7, Stratagene MX4000/MX3005P/MX3000P。

不需要使用 ROX 的机型: Bio-Rad CFX96, CFX384, iCycler iQ, iQ5, MyiQ, MiniOpticon, Opticon, Opticon 2, Chromo4; Cepheid SmartCycler; Eppendorf Mastercycler ep realplex, realplex 2 s; Illumina Eco qPCR; Qiagen/Corbett Rotor-Gene Q, Rotor-Gene 3000, Rotor-Gene 6000; Roche Applied Science LightCycler 480; Thermo Scientific PikoReal Cyclor。

2. qPCR 反应程序, 两步法 PCR:

过程	温度	时间
预变性	95 $^{\circ}$ C	5 min
35 ~ 40 cycles	变性 95 $^{\circ}$ C	15 sec
	退火/延伸 60 $^{\circ}$ C	30 sec

(注意: 建议采用两步法 PCR 反应程序, 若因使用 Tm 值较低的引物等原因, 得不到良好的实验结果时, 可尝试进行三步法 PCR 扩增, 退火温度请以 55 $^{\circ}$ C - 65 $^{\circ}$ C 的范围作为设定参考)

关联产品

产品编号	产品名称
GZ020701-1	2 \times Probe qPCR Mix
GZ020801-1	2 \times SYBR qPCR Mix



关注京泽微信公众号
了解更多产品资讯