

Universal SYBR qPCR Master Mix (UNG)

通用荧光定量 PCR 试剂盒(UNG)

产品编号	产品名称	规格
BL1926A	通用荧光定量 PCR 试剂盒(UNG)	5×1 mL

产品简介:

本产品是在 2×Universal SYBR qPCR Master Mix (BL697A) 基础之上, 通过添加优化比例的 dUTP 和 UNG 酶而开发出的新型防污染荧光定量预混体系。本产品含有优化浓度的热启动 Taq DNA Polymerase、SYBR Green I、dNTPs、dUTP、UNG 酶(尿嘧啶 DNA 糖基化酶)、Mg²⁺、反应缓冲液和稳定剂等成分。在 PCR 反应中以 dUTP 代替 dTTP, 扩增产物片段中的 T 被 U 取代, 形成含 dU 碱基的 PCR 扩增产物, 而高活性的 UNG 酶可以快速降解反应体系中的含 U 的 DNA 片段, 有效消除环境中 PCR 产物的残留污染, 大大降低扩增产物污染导致的假阳性, 从而保证扩增的特异性和准确性。

本产品为 2×防污染预混实时荧光定量快速 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。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点, 可最大限度地减少人为误差、节约 PCR 实验操作时间、降低污染机率。

产品组成:

编号	组分	规格
1	2×Universal SYBR qPCR Master Mix (UNG)	5×1 mL
2	High ROX Reference Dye	220 μL
3	Low ROX Reference Dye	220 μL

保存条件:

收到本产品后, 请立即置于-20℃避光保存, 两年有效。避免反复冻融。如果经常使用, 可置于 4℃保存至少 3 个月。

使用说明:

一、Real-Time PCR 反应体系配制:

将所有试剂 2×Universal SYBR qPCR Master Mix (UNG), 模板, 引物和 RNase-Free ddH₂O, 在室温下融解并彻底混匀, 避免产生气泡。短暂离心后, 置于冰上按照下表配制反应液。参考下表配制反应体系:

组分	20 μL 体系	50 μL 体系
DNA 模板 ^①	1 μL	1 μL
正向引物 (10 μM) ^②	0.5 μL	1 μL
反向引物 (10 μM) ^②	0.5 μL	1 μL
2×Universal SYBR qPCR Master Mix (UNG)	10 μL	25 μL
High/Low ROX Reference Dye ^③	0.4 μL	1 μL
RNase-Free ddH ₂ O	补足至 20 μL	补足至 50 μL

①模板量: 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

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
 注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



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。另外，Two Step RT-PCR 反应的 cDNA(RT 反应液)作为模板时的添加量不要超过 PCR 反应液总体积的 10%。

②引物：通常引物浓度以 0.2 μM 可以得到较好结果，可以终浓度 0.1-1.0 μM 作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下，可提高引物的浓度；发生非特异性反应时，可降低引物浓度，由此优化反应体系。为了获得理想的 qPCR 的效果，扩增片段的长度建议为 80-200 bp。

③不同仪器 ROX 推荐使用终浓度见下表：

仪器型号	ROX 用量
ABI Prism7000/7300/7700/7900HT 和 ABI Step One /ABI Step One Plus 等	High ROX
ABI Prism7500 /7500 Fast , MJ Research Chromo4,Opticon (II) , Corbett Rotor Gene 3000 等	Low ROX
thermal Cycler Dice Real Time System , LightCycler , Smart Cycler System , Corbett Rotor-gene 6000, Agilent Technologies Mx3000P 等	无需添加

二、PCR 反应条件的设置：

本制品中使用的是抗 Taq 抗体封闭的热启动 DNA 聚合酶，PCR 反应前，模板的预变性，通常设定为 95℃、2 min，复杂或高 GC 模板适当延长至 5 min。该 DNA 聚合酶在 15 s 内可完成至少 300 bp 的扩增，可以满足绝大多数的 qPCR 实验；对于超过 350 bp 或者高 GC 含量的扩增子，建议增加延伸时间至 60 s 或者采用三步法以提高扩增效率。

1. 两步法反应程序：

步骤	温度	持续时间	循环数
UNG 酶处理	50℃	5 min	
预变性	95℃	2 min	
变性	95℃	15 sec	40
退火/延伸	60℃	15-30 sec	
熔解曲线分析	根据仪器推荐程序设置		

2. 三步法反应程序：

步骤	温度	持续时间	循环数
UNG 酶处理	50℃	5 min	
预变性	95℃	2 min	
变性	95℃	15 sec	40
退火	60℃	15-30 sec	
延伸	72℃	30 sec	
熔解曲线分析	根据仪器推荐程序设置		

注：以上举例为常规 qPCR 反应系统，仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据模板、引物、目的片段的特点设定最佳反应条件，并根据比例放大或缩小反应体系。

三、上机检测：

将反应体系置于荧光定量 PCR 仪中，运行程序收集数据并分析结果。

注意事项：

1. 本产品中含有荧光染料 SYBR Green I，保存本产品或配制时应避免强光照射。
2. 使用时请上下颠倒轻轻混匀，不要使用振荡器，尽量避免出现泡沫，短暂离心后使用。
3. 引物纯度对反应特异性影响很大，建议使用 PAGE 级别以上纯化的引物。
4. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品；
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

