

Direct Taqman qPCR Master Mix (2×)

(可冻干/直扩型)

货号	规格
BDAG0021-1ml	1ml
BDAG0021-5ml	5ml
BDAG0021-10ml	10ml

运输：冰袋运输，储存：4℃短期（小于1周）保存或者-20℃可保存12个月。

试剂组分：

组分名称	货号		
	BDAG0021-1ml	BDAG0021-5ml	BDAG0021-10ml
Direct Taqman qPCR Master Mix (2×)	1 mL	5 mL	10 mL
ROX ReferenceI (50×) *	40 μL	200 μL	400 μL
ROX ReferenceII (50×) *	40 μL	200 μL	400 μL

*备注：**ROX Reference**为选配试剂，非标准配置。默认无。不同型号Real-Time PCR仪，使用方法如下：

1. **ROX Reference I (50×)**为高浓度ROX，适用于如下型号Real Time PCR仪：

- Applied Biosystems 7300 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific);
- Applied Biosystems 7900 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific);
- Step One Plus Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)。

2. **ROX Reference II (50×)**为低浓度ROX，适用于如下型号Real Time PCR仪：

- Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific);
- Applied Biosystems 7500 FAST Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)。

3. 当使用于如下型号Real Time PCR扩增仪时，无需加入**ROX Reference**：

- Roche、Bio-Rad、TaKaRa等其它无需加入ROX校准染料的Real-Time PCR仪。

产品描述：

本制品为采用探针法(Probe)进行 Real Time PCR (qPCR)反应的专用试剂。产品经过了特殊制备工艺，完全去除了宿主DNA残留；经过优化的配方，可被制成冷冻干燥制剂；适用于针对血液、唾液、拭子、

组织、植物、微生物等样本提取的基因组 DNA、病毒 DNA、质粒 DNA，以及反转录的 cDNA 等进行荧光定量分析，同时可用于对唾液、口腔拭子、组织、血卡、植物等样本进行免核酸提取 Direct qPCR 检测。本产品常用于基因含量检测、基因分型等用途。

本产品含有经抗体封闭的热启动 Taq DNA 聚合酶(Hot-Start Taq)，配合条件优化的热启动 qPCR 专用缓冲体系，可有效避免类似于非热启动型 Taq 聚合酶导致的非特异性扩增反应，从而提高 PCR 扩增效率；同时也能够针对不同 GC 含量的基因完成扩增，获得高灵敏度的 qPCR 测试结果。本产品在宽定量区域具有极佳的线性检测能力，用户通过优化设计的引物和探针就可以对靶基因进行准确定量，具有重复性好、可信度高等优点。

产品特点

1. 可被制成冷冻干燥制剂（用户根据需要选择工艺或联系我司技术支持）；
2. 适用于探针法 qPCR 反应，可快速、准确的对目的基因进行检测、定量及基因分型测试；
3. 制品为 2×浓度的预混试剂，使用简单、方便；
4. 产品使用了抗体封闭的突变型 Taq 酶，可以进行 Hot Start 法 PCR 反应，与特别开发的 Buffer 系统相结合，具有高扩增效率、高扩增灵敏度的特点。

扩增体系和条件

1. 反应体系准备

组分	体积 (μL/ rxn)		终浓度
	Mix A	Mix B	
Direct Taqman qPCR Master Mix (2×)	10	25	1×
Forward Primer (10 μ M)	0.4	1.0	0.2 μM
Reverse Primer (10 μ M)	0.4	1.0	0.2 μM
Probe (10 μ M)	0.4	1.0	0.2 μM
Template	Variable	Variable	/
PCR-Grade H2O	To 25	To 50	/
总体积/rxn	25	50	

*备注:

- 1) 0.2 μM 终浓度的引物(Primer)和探针(Probe)，可满足大部分的实验要求，用户可根据实际情况对引物和探针浓度进行调整；
- 2) 针对不同类型的DNA样本，Template的加入量不同，以20 μL的反应体积为例，

Template的建议用量如下:

DNA Template	Reagent Volume
基因组DNA	20 ng ~ 100 ng

质粒DNA	50 pg ~ 10 ng
cDNA (产物原液)	3.5 μL ~ 1 μL (不超过反应体积的1/10)

3) 如对cDNA 原液进行5~10倍的稀释, 应以扩增CT值在20~30区间为最佳模板用量。若检测CT值小于10则需要对模板加大稀释倍数; 若CT值处于30~35之间需要加大模板体积用量; 若CT值如大于40则定量结果不可靠, 用户需要优化条件或联系技术支持。

2. 反应程序

Initial Denaturation	95°C	2~5 min	1 Cycle
Denaturation	95°C	15 sec	35~45 Cycles
Annealing / Extension / Data Collection	60°C	15-30sec*	

*: 延伸时间根据不同仪器的升降温速度以及不同的项目可以进行调整测试。

注意事项

1. 使用前上下轻柔颠倒容器数次, 确保各试剂成份完全混匀, 试剂如未充分混匀可能导致反应性能下降。可短暂离心 15~30 秒收集试剂至容器底部。切勿使用涡旋震荡等剧烈混匀方式以免产生气泡;
2. 配制 PCR 反应 Master Mix, 在各成份加毕后需涡旋混匀并进行短暂离心;
3. 请避免核酸酶污染样本, 否则可能造成扩增反应出现困难的情况;
4. 产品中含有对光敏感的成份, 应避免强直光照射;
5. 在加入 ROX 的反应体系中, 为获得 S 形反应曲线, 建议阈值设置为 0.1~0.2、基线设置为自动基线。用户需根据实验具体情况进行调整, 使阈值线处于反应的对数期 (线性图谱) 或线性期 (对数图谱)。
6. 在未加入 ROX 的反应体系中, 为获得 S 形反应曲线, 建议设置阈值为 5,000~100,000, 基线一般设置为 3~15 Cycles。用户可根据具体实验情况进行调整, 保证阈值线处于反应的对数期 (线性图谱), 或阈值线处于反应的线性期 (对数图谱)。
7. 本产品仅供科学研究使用。