



GS AntiQ qPCR Probe Master Mix

目录号

GS40130

产品组成

组分	规格
2 ×GS AntiQ qPCR Probe Master Mix	5 ×1.0 mL
ROX Reference Dye I (High)	200 μL
ROX Reference Dye II (Low)	200 μL

保存条件

-20°C避光保存 12 个月。

产品简介

本产品是采用 Probe 探针法进行 qPCR 反应的专用试剂。产品中包含抗体修饰的新型热启动 GS AntiQ DNA polymerase 和精心优化的 Buffer，能有效抑制低温下的非特异性扩增，大大提高了反应特异性和扩增效率，能够在更宽广的范围内对靶基因进行准确定量。此外，本产品根据不同的仪器型号配有两种 ROX Reference Dye (High/Low)，用来校正仪器孔间的荧光误差。

产品特点

- ◇ 高特异性：采用抗体修饰的新型热启动 GS AntiQ DNA polymerase 和精心优化的 Buffer；
- ◇ 操作简便：2 ×预混液中包含有 qPCR 反应所需所有组分，只需加入模板、引物、探针、ROX Reference Dye和水即可进行反应。

适用范围及适用机型

本产品适用于试剂盒提取的基因组 DNA、cDNA、质粒 DNA 和λDNA 等样本的探针法荧光定量检测。

常见仪器需选择的 ROX 参考：

ROX	品牌	仪器型号
ROX Reference Dye I (High)	ABI/Thermo/Life	5700、7000、7300、7700、7900、7900HT、7900HT Fast、StepOne™、 StepOne Plus™
ROX Reference Dye II (Low)	ABI/Thermo/Life	7500、7500Fast、ViiA™7、QuantStudio 3/5/6 Flex/7 Flex/12K Flex
	Stratagene	MX3000P™、MX3500P™、MX4000™
No ROX	ABI/Thermo/Life	PikoReal™ Cyclor
	Bio-Rad	IQ™5、iCycler iQ5™、Chromo4™、CFX96™、CTX384™/MyiQ™、MiniOpticon™、Opticon®、Opticon2、Opticon4、MiniOpticon™
	Eppendorf	Mastercycler™ep realplex、realplex 2s
	Illumina	Eco QPCR
	Cepheid	SmartCycler®
	Qiagen/Corbett	Rotor-Gene G/Q®、Rotor-Gene® 3000、Rotor-Gene® 6000
	Roche	Applied Science LightCycler® 480、LightCycle® 2.0、LightCycle® 96
	TaKaRa	Thermal Cycler Dice™ Real Time、System TP700/TP800/TP850/TP900/TP950
	Analytikjena	qTower2.0、qTower2.2
杭州博日	LineGene 9600、LineGene K Plus	

注意事项

1. 使用前请充分溶解混匀，尽量避免反复冻融，以免酶活下降；
2. 为了避免气溶胶污染，建议使用核酸清洁剂（目录号：GS70090）对实验台面及操作环境进行清洁；
3. 为不影响后续实验，建议做预实验检查引物有效性和特异性；
4. 上机前，注意消除体系中的气泡，以免对结果造成影响。

使用方法

操作示例

按下表配制 qPCR 反应体系（冰上配制）

组分	20 μ L 体系	终浓度
2 \times GS AntiQ qPCR Probe Master Mix	10 μ L	1 \times
Primer 1 (10 μ M) ^a	0.8 μ L	0.4 μ M
Primer 2 (10 μ M) ^a	0.8 μ L	0.4 μ M
Probe ^b	As require	-
ROX Reference Dye I/II (High/Low)	0.4 μ L	1 \times
Template DNA ^c	As require	-
ddH ₂ O	Up to 20 μ L	-

- 引物终浓度推荐 0.4 μ M，当反应性能较差时，可在终浓度 0.2~1.0 μ M 范围内调整引物浓度；
- 探针终浓度可以在 0.1 μ M ~ 0.5 μ M 之间调整；
- 不同种类的 DNA 模板中含有的靶基因拷贝数不同，必要时先梯度稀释再进行 qPCR 反应。若模板为 cDNA 原液，则使用体积不超过 qPCR 反应总体积的 1/10，即 2 μ L/20 μ L 体系。

推荐的 qPCR 程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性 ^a	95°C	2~5 min	1
变性	95°C	10 s	40 cycles
退火/延伸 ^b	60~65°C	20~50 s	

- cDNA 模板预变性 2 min，基因组 DNA 模板预变性 5 min；
- 2 个以上的多重探针检测建议将退火延伸时间延长至 50s。

常见问题与解决办法

Q1：无 Ct 值出现？

A1：

- 采集荧光信号的步骤有误。检查程序设置，两步法扩增在退火延伸步骤采集信号，三步法扩增在延伸阶段采集信号；
- 模板或 ROX 使用错误。当 ROX 浓度太低或太高时，Ct 值可能显示为 Unknown 或空白，根据仪器类型选择合适的 ROX；
- 引物或模板降解。PAGE 电泳检测引物完整性，琼脂糖凝胶电泳检测模板 DNA 或 RNA 的质量及完整性，RNA 模板建议重新逆转录获得 cDNA，cDNA 应尽快使用；
- 模板量不足。适当增加模板用量或重新制备高浓度模板。

Q2：实验重复性差？

A2：

- 1) 加样存在误差。使用性能较好的移液枪，配制预混液后分装，减少移液误差；
- 2) 荧光定量 PCR 仪器不同位置温度控制不一致。定期校准仪器；
- 3) 模板浓度低或拷贝数低。适当增加模板用量。

Q3：扩增曲线形状异常？

A3：

- 1) 扩增曲线不光滑。信号太弱，经系统矫正后产生，可提高模板浓度重复实验；
- 2) 扩增曲线断裂、骤降。模板浓度较高或反应管内留有气泡,减小基线终点(CT 值-4)重新分析数据，或上机前离心并仔细检查反应管内是否有气泡残留；
- 3) 分析数据时通道选择不正确。如没有在体系中加入 ROX，但分析时在仪器设置中选择了 ROX 选项，应根据具体操作体系选择合适的分析条件。

Q4：同一试剂在不同仪器上产生不同的曲线？

A4：

分析扩增效率，灵敏度，特异性，如果扩增效率在 90%~110%，且都是特异性扩增，则数据均可分析使用。

相关产品推荐

产品名称	货号
GS AntiQ qPCR SYBR Green Fast Mix(Low ROX Premixed)	SQ411
GS AntiQ qPCR SYBR Green Master Mix	SQ412
UnionScript First-strand cDNA Synthesis Mix for qPCR	SR512
UnionScript First-strand cDNA Synthesis Mix for qPCR(with dsDNase)	SR511