

## HelyxQuest® Elite qPCR 预混液

**品名: HelyxQuest® Elite qPCR 预混液**

**货号: HB-D01017; HB-D01018; HB-D01019; HB-D01020; HB-D01021**

### 产品描述

HelyxQuest® Elite qPCR Master Mix 是一种稳定且使用方便的 2X 预混液。可以对任何基因或者 DNA 片段进行探针法的实时荧光 PCR (Real-time PCR, 也称为 qPCR) 分析。预混液包含 Taq 聚合酶、尿嘧啶-N-糖基化酶 (Heat Labile UNG)、dNTP (with dUTP)、ROX 染料 (参比荧光) 和优化的缓冲液组分。本预混液适用的应用范围有: 基因表达, 基因分型, 绝对定量等。

### 试剂盒规格及存储

货号	规格	储存
HB-D01017	1 mL	2°C~8°C
HB-D01018	5 mL	
HB-D01019	50 mL	
HB-D01020	5×1 mL	
HB-D01021	10×5 mL	

### 配制反应体系

- 充分混匀 HelyxQuest® Elite qPCR Master Mix。
- 在冰上解冻样品, Taqman™ 探针和引物, 振荡混匀, 离心, 置于冰上待用。
- 根据总的反应数, 参照下表, 在 1.5 mL 离心管中添加如下组分, 配制成混合液。请为各组分预留 10% 的冗余量, 以免移液损失造成体系不足。

组分	反应体积 (20 μL 体系)	反应体积 (10 μL 体系)	最终浓度
2× HelyxQuest® Elite qPCR Master Mix	10.0 μL	5.0 μL	1×
20 μM 上游引物	0.5 μL	0.25 μL	500 nM *
20 μM 下游引物	0.5 μL	0.25 μL	500 nM *
10 μM Taqman™ 探针	0.5 μL	0.25 μL	250 nM *
无核酸酶水	6.5 μL	3.25 μL	N/A
总体积	18.0 μL	9.0 μL	N/A

\* 建议调整使用引物终浓度为 50-900 nM, 探针终浓度为 50-250 nM, 以达最佳实验效果。

- 涡旋混匀 1.5 mL 离心管, 瞬时离心, 避免产生气泡。
- 参照下表, 将上述配制好的混合液转移到反应板的每个孔中。

反应板类型	添加体积
96 孔板/48 孔板	18.0 μL
384 孔板	9.0 μL

- 将反应板转移到加样区域。
- 参照以下表格在每个反应孔里加入 DNA 模板或无核酸酶水。

组分	反应体积 (20 $\mu$ L 体系)	反应体积 (10 $\mu$ L 体系)
DNA 模板 (样品孔) *	2.0 $\mu$ L	1.0 $\mu$ L
无核酸酶水(NTC 孔无模板对照)	2.0 $\mu$ L	1.0 $\mu$ L
每个反应总体积	20.0 $\mu$ L	10.0 $\mu$ L

- 用光学膜覆盖反应板，配合刮板贴紧光学膜。
- 瞬时离心，避免产生气泡。

### 运行 qPCR 反应程序

根据需求选择快速或标准反应模式，并根据仪器机型设置反应参数。

UNG 酶去除污染	预变性	变性	退火/延伸
37°C, 2 min	95°C, 20 sec	95°C, 1 sec	60°C, 20 sec (读取荧光)
40 次循环			

对于 Applied Biosystems 7500/7500 Fast 设备，因为设备收集荧光有最短时间的要求，推荐以下反应程序

UNG 酶去除污染	预变性	变性	退火/延伸
37°C, 2 min	95°C, 20 sec	95°C, 3 sec	60°C, 40 sec (读取荧光) (至少 31 秒)
40 次循环			

### 实验数据分析

针对不同的仪器类型，数据分析也略有不同。一般情况下，数据分析主要包括：

- 观察扩增曲线，根据需要进行设置，比如：
  - 设置合适的基线和阈值线
  - 将一些典型的异常值从分析中排除掉
- 在结果表中，观察复孔之间的Ct值是否有差异。
- 对于绝对定量，观察标准曲线的斜率、扩增效率、 $R^2$ 值、截距、Ct值和异常值。

### 运输和存储

冰袋运输，2-8°C 存储。

仅供研究使用,不用于临床诊断

©2024 苏州海博赛思生物科技有限公司，版权所有，保留所有权利。

版本.A.02