



北京启衡星生物科技有限公司
BEIJING FOREVERSTAR BIOTECH CO.,LTD.

StarLighter Probe qPCR Mix (Universal) (StarLighter 探针法 qPCR预混液 (通用型))

产品货号	单位规格
FS-Q2001-S	20 μ L \times 100 rxns
FS-Q2002	20 μ L \times 500 rxns
FS-Q2003	20 μ L \times 1000 rxns

产品简介:

StarLighter Probe qPCR Mix (Universal)是一款适用于探针法的Real time PCR (qPCR)反应的通用试剂。StarLighter Probe qPCR Mix (Universal) 是包含了除模板、引物、探针外所有组分的即用型试剂。它的核心组分是优选的热启动 Taq DNA polymerase，配合针对qPCR优化的最适缓冲液，可以有效抑制非特异性扩增，大大增加qPCR扩增效率，适用于进行高灵敏度的qPCR反应。参比染料ROX随试剂盒提供。

本产品使用前只需要加入引物、模板、探针、ROX(根据使用的机型而定)、水。利用本产品可在广泛的定量区域内得到良好的标准曲线，对靶基因进行准确的定量、定性和SNP检测；具有重复性好，可信度高,兼容各种不同类型的qPCR探针的特点。

产品应用:

- 基因表达分析
- SNP和等位基因分型
- 测序和微阵列结果的验证

产品说明:

储存和运输:

1. 冰上运输。
2. 到货后-20 $^{\circ}$ C恒温冷冻冰箱避光保存。
3. 正确使用和保存时，产品能在保质期内保持良好性能。

质量控制:

StarLighter Probe Green qPCR Mix (Universal) 所有组分经检测均无核酸外切酶、核酸内切酶及核酸污染。以人基因组DNA作为模板进行功能测试，并以5个浓度梯度制作标准曲线时，扩增效率为90 - 110 %， $R^2 > 0.99$ 。

产品组成:

组分名称	FS-Q2001-S	FS-Q2002	FS-Q2003	保存条件
2× StarLighter Probe qPCR Mix (Universal)	1 mL	5 mL	10 mL	-15 至 -25°C
50 × StarLighter Rox high	40 μL	200 μL	400 μL	-15 至 -25°C, 避光保存
50 × StarLighter Rox low	40 μL	200 μL	400 μL	

注：请按照推荐的储存温度保存，避免反复冻融。

仪器与ROX参比染料对照表:

仪器	ROX 参比染料
Applied Biosystems® 5700, 7000, 7300, 7700, 7900HT, StepOne™, and StepOnePlus™	ROX High
Applied Biosystems® 7500, ViiA™7, QuantStudio™ 12K Flex, Agilent Mx3000P™, Mx3005P™, and Mx4000™	ROX Low
Rotor-Gene™, DNA Engine Opticon™, Opticon™ 2, Chromo 4™ Real-Time Detector, Mastercycler® ep realplex, Smart Cycler®, Roche LightCycler® 480, Roche LightCycler® Nano, Bio-Rad CFX96, and Illumina Eco™	No ROX

StarLighter Probe qPCR Mix (Universal) 操作流程

1、操作步骤

1.1 使用试剂前确保彻底融化并混匀，加入反应体系的所有模板、引物、染料等组分也应充分混匀；

1.2 计算所加各组分的体积（参考下面表格），并小心吸取准确体积到PCR 反应管内，（注意粘稠液体需尽量减少枪头黏附）；

1.3 盖好PCR 管盖，瞬时离心。



组分	20 μ L体系	终浓度
2 \times StarLighter Probe qPCR Mix	10 μ L	1 \times
10 μ M Forward Primer	0.2 - 0.8 μ L	100 - 400 nM
10 μ M Reverse Primer	0.2 - 0.8 μ L	100 - 400 nM
10 μ M Probe	0.2 - 1.0 μ L	100 - 500 nM
Template	As required	/
50 \times Rox Low/High	0.4 μ L	1 \times
PCR-grade water	补至 20 μ L	/

a.反应体积可以在5-25 μ L范围调整（各组分按比例变化），不建议>50 μ L。

b.本试剂中含有 Mg^{2+} ，无需额外再加。

c.使用时共同组分最好先配成预混液。

2、反应程序

- 推荐使用快速运行模式
- qPCR程序参考下表设置

Step	Temperature	Duration	Cycles
Enzyme Activation	95 $^{\circ}$ C	3 min	1
Denaturation	95 $^{\circ}$ C	10 - 20sec	35 - 45
Annealling/Extention/Data Acquisition	55 - 65 $^{\circ}$ C	30 - 50sec	

a.预变性时间应设置在3 min，若模板GC 含量较高可适当延长预变性时间至5 min。

b.退火延伸温度需要依据引物和探针 T_m 值确定，

c.初次可使用 60 $^{\circ}$ C, 20s 做预实验，最低延伸退火时间在不同仪器上会有不同。

常见问题与解决方法：

A: 扩增曲线异常

1、扩增曲线不光滑：

- 系统需要校正，提高模板浓度；
- ROX 使用错误，更换正确的ROX 类型。

2、扩增曲线断裂或下滑：

- 模板浓度高，提高阈值并重新分析数据；
- 降低模板浓度。

3、个别扩增曲线骤降：

- 反应管有气泡，上机前应先离心。



B: 反应结束无扩增曲线

- 1、循环数不够：一般设40个循环，但过多循环数会增加背景信号，降低数据可信度。
- 2、确认程序中是否设置信号采集：两步法的扩增程序一般在退火/延伸阶段采集信号；三步法扩增信号采集设置在延伸阶段。
- 3、引物降解：PAGE 检测排除其降解的可能性。
- 4、模板浓度太低：减少稀释度重复实验，先从高浓度做起。
- 5、模板降解：重新制备模板。

C: Ct 值太高

- 1、扩增效率低：优化反应条件，尝试三步法扩增或重新设计合成引物。
- 2、模板浓度低：减少模板稀释度，先从高浓度做起。
- 3、模板降解：重新制备模板。
- 4、PCR 产物太长：推荐PCR产物长度80-150 bp。
- 5、存在PCR抑制剂：若为模板带入，加大模板稀释倍数或重新制备模板。

D: 阴性对照出现明显扩增

- 1、反应体系污染：更换新的Mix、水、引物等重复实验；反应体系在超净工作台内配制，减少气溶胶污染。
- 2、引物设计不合理：重新设计并合成引物。

E: 标准曲线线性关系不佳

- 1、加样误差：提高模板稀释倍数，提高加样体积。
- 2、标准品降解：重新制备标准品。
- 3、模板浓度太高：提高模板稀释倍数。

F: 实验重复性差

- 1、加样体积不一致：使用更好的移液枪；将模板做高倍稀释，加大模板加入的体积。
- 2、模板浓度太低：模板浓度越低，重复性越差，减少模板稀释度或提高加样体积。

北京启衡星生物科技有限公司

地址：北京市昌平区生命园西环路21号楼南楼三层

网址：www.qihengxing.com

电话：010-62149251

邮箱：sales@qihengxing.com marketing@qihengxing.com

support@qihengxing.com



扫码关注

了解更多产品信息

本产品仅供研究，不做为临床诊断使用

版本号：V1