

**【产品概述】**

2× Taq Universal Probe Master Mix 是包含了除模板、探针、引物以外所有扩增所需组分的预混液，适用于以 Taqman 等水解探针法为基础的 DNA 样品的 Real time PCR (qPCR) 分析。预混液中的高效 Taq DNA Polymerase 和经特殊优化的缓冲体系，可以确保在广泛的定量区域内获得良好的扩增曲线，并显著提高 qPCR 检测灵敏度。本产品可应用于 SNP 分型、基因检测、表达分析等各类研究。

**【产品组分】**

组分	M4QP01-01 (100 rxns)	M4QP01-02 (500 rxns)	M4QP01-03 (2500 rxns)
2× Taq Universal Probe Master Mix	1 mL	5×1 mL	5×M4QP01-02

**【储存和运输】**

干冰或冰上运输，-20℃避光保存；避免反复冻融。

**【实验操作】**
**1. 推荐的反应体系**

组分	推荐用量	推荐终浓度
2× Taq Universal Probe Master Mix	10 μL	1×
Forward Primer (10 μM)	0.4 μL	0.1 - 1 μM
Reverse Primer (10 μM)	0.4 μL	0.1 - 1 μM
Taqman Probe (10 μM)	0.2 μL	0.1 - 0.5 μM
Template DNA	Variable	-
ddH <sub>2</sub> O	to 20 μL	-

注：可根据不同模板类型对投入的体积进行适当调整。



## 2. 推荐的扩增程序

步骤	温度	时间	荧光信号	循环数
Pre-denaturation	95°C	3 min		1
Denaturation	95°C	10s		40
Annealing/Extension	55-65°C	5-20 sec*	采集荧光	

\* 可适当调整退火/延伸时间。本产品不含被动参比染料，如需荧光校正，可单独购买 ROX 染料。

### 【常见问题与解决方案】

常见问题	解决方案	
A: 扩增曲线异常	扩增曲线不光滑	进行系统矫正；提高模板浓度
	扩增曲线断裂或下滑	模板浓度较高，可降低模板浓度或分析时设定较少的基线循环数
	个别扩增曲线骤降	反应管内留有气泡，样本上机前离心
	扩增曲线呈锯齿状且不连续	ROX 添加不当，使用正确的 ROX 浓度
B: 反应结束无扩增曲线	循环数不够	一般建议设置循环数为 40，过多循环数增加背景信号，降低数据可信度
	程序中未正确设置信号采集	两步法一般在退火/延伸阶段采集信号；三步法在延伸阶段采集信号；设置正确的荧光类型
	引物降解	PAGE 电泳检测引物完整性
	模板浓度低	未知样品从高浓度做起，降低稀释度
	模板降解	重新制备模板
C: 重复性差	加样不准确	更换移液枪；扩大反应体积
	qPCR 预混液未混匀	使用前充分解冻并混匀预混液
D: Ct 值过高	PCR 产物过长	推荐 PCR 产物长度 80-150bp
	模板降解	重新制备模板
	扩增效率低	优化反应条件，尝试三步法扩增；重新设计引物
	反应体系中存在 PCR 反应抑制剂	若为模板带入，可加大模板稀释倍数或重新制备模板
	模板浓度低	减少稀释倍数，重复实验
E: 标准曲线线性关系不佳	加样误差	加大模板稀释倍数，提高加样体积
	标准品降解	重新制样，重复实验
	模板浓度太高	增加模板稀释倍数

