

TransNGS[®] Library Quantification qPCR SuperMix

使用前请仔细阅读说明书

目录号: KQ201

保存: -20°C避光保存一年。

产品说明

本产品包含全封闭TransStar[®] TipTaq新型热启动酶(利用三种蛋白封闭模板和引物, 利用特殊的化学物质和DNA聚合酶结合, 封闭DNA聚合酶活性)、新型EvaGreen荧光染料、dNTPs、PCR增强剂、PCR稳定剂以及针对文库定量特别优化的反应缓冲液, 具有灵敏度高、特异性强、扩增能力强、适用范围广、稳定性好等特点, 适用于不同GC含量以及长片段文库的定量检测, 非常适用于二代测序文库的qPCR法绝对定量。本产品浓度为2×, 使用时只需加入模板、引物、Passive Reference Dye (根据qPCR仪器选择) 和水, 使其工作浓度为1×, 即可进行反应。

特点

- 扩增效率与灵敏度高。
- 适用范围广, 可扩增富含GC/AT的长片段文库。
- 新型EvaGreen荧光染料, 信号更强、更稳定。
- 重复性好, 配有适用于不同机型的Passive Reference Dye, 兼容所有主流定量qPCR仪器。

试剂盒组成

Component	KQ201-01	KQ201-02
TransNGS [®] Library Quantification qPCR SuperMix (2×)	1 ml	5×1 ml
Library Quantification Primer Mix (20×)	100 µl	500 µl
Passive Reference Dye (50×)	40 µl	200 µl
Nuclease-free Water	1 ml	5 ml

推荐qPCR体系与条件 (以20 µl反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
Template	Variable	as required
TransNGS [®] Library Quantification qPCR SuperMix (2×)	10 µl	1×
Library Quantification Primer Mix (20×)	1 µl	1×
Passive Reference Dye (50×) (optional)	0.4 µl	1×
Nuclease-free Water	Variable	-
Total volume	20 µl	-

(建议的模板量为10¹-10⁷ Copies。推荐20 µl反应体系, 如需进行10 µl反应体系, 可将体系各组分等比例减少即可。)

qPCR (两步法)

95°C 5 min
 95°C 25 sec
 60°C 45 sec } 35 cycles
 Dissociation Stage

qPCR (三步法)

95°C 5 min
 95°C 20 sec
 60°C 20 sec } 35 cycles
 72°C 30 sec }
 Dissociation Stage



请使用"EvaGreen"或者"SYBR Green"通道进行信号采集。常规文库(中等GC含量、平均长度小于700 bp)建议使用两步法。对于偏高或者偏低GC含量的文库,建议使用三步法扩增。对于平均长度大于700 bp的文库,建议使用三步法,并且把延伸时间增加到50秒。不同仪器熔解曲线采集程序不尽相同,一般使用仪器默认程序即可。

Passive Reference Dye适用机型

- Passive Reference Dye I (50×)

ABI Prism 7000/7300/7700/7900, ABI Step One, ABI Step One Plus, ABI 7900HT, ABI 7900HT Fast

- Passive Reference Dye II (50×)

ABI Prism 7500, ABI Prism 7500 Fast, ABI QuantStudio Dx/3/5, ABI QuantStudio 6/7/12K Flex, ABI ViiA 7, Stratagene Mx3000P/Mx3005P/Mx4000

- No Passive Reference Dye

Roche LightCycler 480, Roche Light Cycler 96, MJ Research Chromo4, MJ Research Opticon 2, Takara TP-800, Bio-Rad iCycler iQ, Bio-Rad iCycler iQ5, Bio-Rad CFX96, Bio-Rad C1000 Thermal Cycler, Thermo Scientific Pikoreal 96, Qiagen Corbett Rotor-Gene 6000, Qiagen Corbett Rotor-Gene G, Qiagen Corbett Rotor-Gene Q, Qiagen Corbett Rotor-Gene 3000, Mastercycler ep realplex

注意事项

- 本产品除了作为文库定量的专用qPCR SuperMix, 也非常适合长片段或者富含AT/GC的模板的定量检测。
- 冰上彻底化冻、充分混匀后再使用, 用完后请放置于-20℃避光保存。
- 为避免体系污染, 建议文库稀释、配制预混液、加模板这三个步骤分别在3个物理隔离的不同区域进行操作。
- 建议所有操作在冰上进行, 加好样后一定要充分混匀, 离心后再放入qPCR仪器中。
- 根据qPCR仪器机型选择Passive Reference Dye。
- 更多注意事项请参照TransNGS® Library Quantification Kit for Illumina®(目录号:KQ101)产品说明书。

本产品仅供研究, 不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

