



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

# StarLighter Probe qPCR Mix (Universal)

产品货号	单位规格
FS-Q2001	1mL 100×20 rxns
FS-Q2002	5mL 500×20 rxns

## 产品概述:

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, 并兼容各种不同类型的qPCR探针的特点。

## 产品组分:

组分	FS-Q2001	FS-Q2002	浓度	储存条件
2X StarLighter Probe qPCR Mix (Universal)	1mL	5mL	2x	-20°C
50X StarLighter Rox high	40μL	200μL	50x	-20°C 避光保存
50X StarLighter Rox low	40μL	200μL	50x	-20°C 避光保存

注: 请按照推荐的储存温度保存, 避免反复冻融。



**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：**

- 冰上运输
- 到货后-20℃恒温冷冻冰箱避光保存
- 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 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%， $R^2 > 0.99$ 。

**产品适用qPCR机型：**

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、探针、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黏附）；

1.3 盖好PCR管盖，瞬时离心。

组分	20 $\mu$ l rxn	终浓度
2x StarLighter Probe qPCR Mix (Universal)	10 $\mu$ L	1x
10 $\mu$ M Forward Primer	0.2-0.8 $\mu$ L	100-400nM
10 $\mu$ M Reverse Primer	0.2-0.8 $\mu$ L	100-400nM
10 $\mu$ M Probe	0.2-1.0 $\mu$ L	100-500nM
Template	As required	/
50x StarLighter Rox Low/High	0.4 $\mu$ L	1x
PCR-grade water	补至 20 $\mu$ L	/

a、反应体积可以在5-25 $\mu$ L范围调整（各组分按比例变化），不建议>25 $\mu$ L；

b、本试剂中含有Mg<sup>2+</sup>，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°C	3min	1
Denaturation	95°C	10-20sec	35-45
Annealling/Extention/ Data acquisition	55-65°C	30-50sec	

- a、预变性时间应设置在3min，若模板GC含量较高可适当延长预变性时间至5min；
- b、退火延伸温度需要依据引物和探针T<sub>m</sub>值确定；
- c、初次可使用60°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。处理样本时注意离心。

#### B: 反应结束无扩增曲线

- 1、循环数不够：一般设置40个循环，但要注意过多循环数增加背景信号，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80-150bp。
- 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：北京市海淀区西直门外高粱桥斜街19号院3号楼209室

网址：[www.qihengxing.com](http://www.qihengxing.com)

Tel: 010-62149251

E-mail: [sales@qihengxing.com](mailto:sales@qihengxing.com) [marketing@qihengxin.com](mailto:marketing@qihengxin.com)

[support@qihengxing.com](mailto:support@qihengxing.com)



扫码关注  
了解更多产品信息