



**ELK Biotechnology**  
For research use only.

## EnTurbo™ Probe qPCR SuperMix

货号	规格	EnTurbo™ SYBR Green PCR SuperMix	50x ROX Dye	RNase-Free ddH2O	储藏/有效期
EQ017	20μL×500 rxns	4 x 1.25mL	1mL	4 x 1.25mL	-20°C/一年

### 产品优势

- ◆ 快速获得结果，可节省多达 50%的时间
- ◆ 优化的即用型预混液用于快速 PCR 反应
- ◆ 准确检测各种起始量的模板，扩增稳定、定量结果具有高度重复性
- ◆ 平衡的  $K^+$  和  $NH_4^+$  离子配比，以及独立的 ROX Reference Dye 包装，适用所有 real-timePCR 仪器

### 产品描述

EnTurbo™ Probe qPCR SuperMix 为专用于探针法 qPCR 的 2x 预混液，包含 HotStarTaq DNA Polymerase、dNTP 和  $Mg^{2+}$ ，此外缓冲液中平衡的  $K^+$  和  $NH_4^+$  离子配比可促进特异性的引物退火，确保高度灵敏和特异的 PCR 反应，只需在即用型 PCR 预混液中加入引物和 cDNA 模板，即可开始反应。独特的 PCR 缓冲液可确保在所有 real-timePCR 仪上进行灵敏的 qPCR，无需优化。

### 试剂盒成分

成分	特点	优势
HotStarTaq DNA Polymerase	预变性温度下加热30s，封闭抗体即可完全失活，释放出DNA聚合酶活性。	可有效抑制引物退火导致的非特异性扩增。
Probe qPCR Buffer	适用于所有real-timePCR 仪器	qPCR 运行时间缩短 50%，更快获得结果，一天内可完成更多 PCR 反应
ROX 染料	对 ABI 和Agilent PCR 仪进行荧光信号的校准	对需要ROX 染料的PCR 仪进行校准，不影响PCR 反应结果



## ELK Biotechnology

For research use only.

### 试剂盒原理

EnTurbo™ Probe PCR SuperMix 可在大范围内进行特异性、灵敏的检测，适用于标准和快速 PCR 仪。特制的快速 PCR 缓冲液，可大大缩短变性、退火和延伸时间，对复杂的模板、PCR 抑制剂残留较多的模板（如土壤和粪便 DNA）以及长片段扩增等具有较好的适用性。此外，HotStarTaq DNA Polymerase 可在 95°C 加热 30sec 活化，需要严格的热启动，以避免生成非特异性产物。

### 试剂盒应用

EnTurbo™ Probe qPCR SuperMix 可用于 cDNA 的基因表达分析，质粒、gDNA 以及测序文库的绝对定量分析，适用于各种 real-timePCR 仪，包括 ABI、Bio-Rad、Eppendorf、Roche 和 Agilent 的 PCR 仪。

### 注意事项

#### 1. 模板

- cDNA：对于两步法定量 qPCR，使用从 10pg 到 1ng 总 RNA 中逆转录的 10μL cDNA。20μL 反应体系中，cDNA 模板的使用量一般不超过 100ng。需注意，当检测未稀释的 cDNA 中高丰度基因时，可能会导致定量 PCR 结果中 Ct 值过低，从而影响定量的准确性。将 cDNA 模板进行梯度稀释可以获得更准确的结果。
- 质粒和基因组 DNA：在 20μL 体系里可使用 100pg 至 1ng 量的基因组 DNA 或  $10-10^7$  拷贝数的质粒 DNA。

#### 2. 运输及保存方式

- 1) 冰袋、干冰运输。
- 2) 2-8°C 避光保存，长期保存请放置于 -20°C。使用前请务必颠倒混匀。
- 3) 为了您的安全及健康，实验操作时请穿实验服并佩戴一次性操作手套。



**ELK Biotechnology**  
For research use only.

## 反应体系

建立如下所述的反应体系。若要进行多个反应，可制备通用组分的预混液，在每管或每孔中加入合适的体积，然后加入特殊的反应组分（例如：模板）。

组成成分	96孔板	384孔板	终浓度
	20 $\mu$ L 体系	10 $\mu$ L 体系	
2 x Probe qPCR SuperMix	10 $\mu$ L	5 $\mu$ L	1 x
PCR Forward Primer (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ L	0.2 $\mu$ L	0.2 $\mu$ M
PCR Reverse Primer (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ L	0.2 $\mu$ L	0.2 $\mu$ M
Probe 探针 (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ L	0.2 $\mu$ L	0.2 $\mu$ M
模板			
*50 x ROX Dye (可选)	0.4 $\mu$ L	0.2 $\mu$ L	1x
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	to 20 $\mu$ L	to 10 $\mu$ L	—

1. 推荐使用 20 $\mu$ L 体系以保证目的基因扩增的有效性和重复性。
2. 盖上或密封反应管/PCR 板，轻轻混匀。可以稍微离心，确保所有组分都在管底。
3. 将反应体系置于荧光定量 PCR 仪中，收集数据并分析结果。按下表所示设置您的 PCR 仪。最适温度和孵育时间可视具体情形而定。

### \*ROX 染料

可根据选择的仪器在反应体系中加入 ROX 染料，将反应体系中的荧光信号标准化。下表所列为使用不同仪器操作时所需的 ROX 量（每 50 $\mu$ L 反应体系）：

仪器	每 50 $\mu$ L 体系反应所需的 ROX 量
ABI7300、7900HT、StepOne 等	5 $\mu$ L
ABI7500、7500Fast、ViiA7、Stratagene Mx3000™、Mx3005P™ 以及 Mx4000™ 等	1 $\mu$ L
Roche 仪器、Bio-Rad 仪器，Eppendorf 仪器等	无需添加



**ELK Biotechnology**  
For research use only.

两步法扩增程序:

阶段	循环数	温度	时间
预变性	1x	95°C	30 sec
变性	35-40x	95°C	5 sec
退火/延伸		60°C	30 sec

三步法扩增程序:

阶段	循环数	温度	时间
预变性	1x	95°C	30 sec
变性	35-40x	95°C	5 sec
退火		50~60°C	30 sec
延伸		72°C	30 sec

注: 1) 预变性时间: 满足大多数基因的扩增, 如果扩增片段为高GC含量片段或复杂结构样本, 可将预变性时间增加至2-5min。  
2) 退火温度及时间: 可根据引物T<sub>m</sub>值及目的基因扩增长度进行调整。

## 结果分析

定量实验至少需要三个生物学重复。反应结束后需要确认扩增曲线及熔解曲线。