

ChiDigit 探针法芯片式数字PCR试剂盒

ChiDigit Chip dPCR Kit for Probe

Code No. AG12901

包装量:	200 rxns / 10 μ l
保存温度:	-20 $^{\circ}$ C

产品概述

本产品是一款适用于芯片式数字 PCR (Chip digital PCR, cdPCR) 的 2X Premix 探针法 DNA 检测试剂盒, 反应液配制十分简单、快捷, 仅需加入引物、探针、模板及 RNase free water 即可进行 PCR 反应, 可有效降低污染风险。

本产品采用了反应性能优越的 *Pro Taq* HS 体系 (混合了 Taq 抗体), 能够有效抑制非特异性扩增, 提高反应灵敏度, 提升结果准确性。本产品含 ROX 染料, 可以对有效微孔数进行质量控制。

保存及运输

保存温度: -20 $^{\circ}$ C 保存

运输温度: 干冰运输或 -20 $^{\circ}$ C 冰袋运输

产品组成

2X Chip dPCR Premix for Probe *1	500 μ l X 2 pcs
RNase free water	1 ml

*1: 含有 *Pro Taq* HS DNA Polymerase、dNTP Mixture、ROX 与反应 Buffer 等。

实验操作

(以 ABI QuantStudioTM Absolute QTM Digital PCR System 为例)

1. 配制 cdPCR 反应液*1

组分名称	反应终浓度	10 μ l 体系
2X Chip dPCR Premix for Probe	1 \times	5 μ l
Primer F (10 μ M)	0.4 μ M*2	0.4 μ l
Primer R (10 μ M)	0.4 μ M*2	0.4 μ l
Probe (10 μ M)	0.4 μ M*3	0.4 μ l
Template*5	-	1 ~ 2000 copies / μ l*4
RNase free water	-	Up to 10 μ l

*1: 请按照不同仪器推荐反应体系配制反应液。

*2: 引物推荐使用终浓度为 0.4 μ M, 也可根据实际需求在 0.2 ~ 1.0 μ M 范围内调整。

*3: 探针浓度与使用的仪器、荧光标记物质种类有关, 请参照仪器说明书及荧光探针的具体使用要求调整。探针推荐使用终浓度为 0.4 μ M, 可根据实际需求在 0.2 ~ 0.8 μ M 范围内进行调整。

*4: 在 10 μ l 体系里, DNA 模板浓度控制在 1 ~ 2000 copies / μ l, 若模板量超出芯片承载量 (即全部微孔为阳性微孔), 不满足泊松分布规则, 则需进行梯度稀释, 以确定合适的模板添加量。

*5: 该制品灵敏度极高, 10 μ l 反应体系中, 建议将模板稀释后加入 2 ~ 4 μ l / 样本, 以提升实验的准确度及重复性。

2. 上机前准备

- 1) 配制完混匀后，使用桌面小型离心机进行瞬时离心，去除肉眼可见的大气泡；
- 2) 室温 10000 g 离心 1 min，除去肉眼无法观测的小气泡（后续均在室温下进行操作）；
- 3) 使用移液枪吸取 9 μ l 离心后的样品，倾斜 45° 缓慢加入到芯片 QuantStudio™ Absolute Q™ MAP16 Plate Kit (Thermo Fisher Scientific, Code No. A52865) 样品孔中，避免操作中产生气泡；
- 4) 加完样品后立即倾斜 45° 缓慢加入 15 μ l QuantStudio™ Absolute Q™ Isolation Buffer (Thermo Fisher Scientific, Code No. A52730) ；
- 5) 实验完成后，需尽快进行上机扩增。

3. 上机

将装载有样品的芯片转至仪器中，根据仪器说明书设置程序，开始实验。

4. cdPCR 反应条件*1

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	30 sec ^{*2}	1
变性	95°C	5 sec	} 45
退火和延伸 ^{*3}	60°C	30 sec	

*1: 请参照仪器操作手册设置反应条件。

*2: 预变性时间通常设定为 30 sec，如果模板变性困难，可根据实际需求在 30 sec ~ 2 min 调整预变性时间。

*3: 通常情况下 PCR 扩增产物设计在 300 bp 以下，扩增退火和延伸反应条件设定为 60°C、30 sec 时可以满足要求；如需提高反应特异性，可适当提高退火和延伸温度；如需提高扩增效率，或者 PCR 扩增产物较长，则可将反应退火和延伸时间适当延长，同时也可尝试进行三步法 PCR 扩增（三步法 PCR 反应程序可参考附录）。

➤ 结果检测

反应结束后，进行结果分析。（分析方法请参照仪器操作手册）

➤ 附录：三步法 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	30 sec	1
变性	95°C	5 sec	} 45
退火	55°C	30 sec	
延伸	72°C	30 sec	

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.