

PowerUp SYBR Green预混液

出众的特异性, 广泛的仪器兼容性

PowerUp™ SYBR™ Green预混液是预先配制并优化过的通用型2X预混液, 适用于实时荧光定量PCR工作流程。以20多年的创新和卓越产品性能的qPCR产品为基础, 我们的PowerUp SYBR Green预混液专为获得最具挑战性的实时荧光定量PCR的出众性能而设计。

其特性包括:

- 特异性强: 双重热启动机制提供了出众的特异性
- 重复性高: 在较宽的动态范围内都能获得可重复性的C_t值
- 灵活性高: 适用于标准或快速循环, 标准循环60分钟, 快速循环30分钟即可获得结果
- 抗污染能力强: 采用尿嘧啶-N-转葡萄糖基酶(UNG)和dUTP配方, 有助于防止残留PCR产物污染
- 稳定性高: 制备好qPCR反应板后, 可以在室温下稳定保存72小时
- 通用性强: 广泛适用于市面上的仪器

实现最高的特异性和可重复性

PowerUp SYBR Green预混液包含Dual-Lock™ Taq DNA聚合酶, 它采用两种热启动机制控制其活性。这种双重热启动方法可以精确控制Taq的激活, 有助于防止较低温度下聚合酶过早激活而导致的非特异性扩增。Dual-Lock Taq DNA聚合酶采用便捷的2X预混液配方, 其中包含优化的缓冲液系统及去污剂, 可以进一步提升PowerUp SYBR Green预混液的特异性。



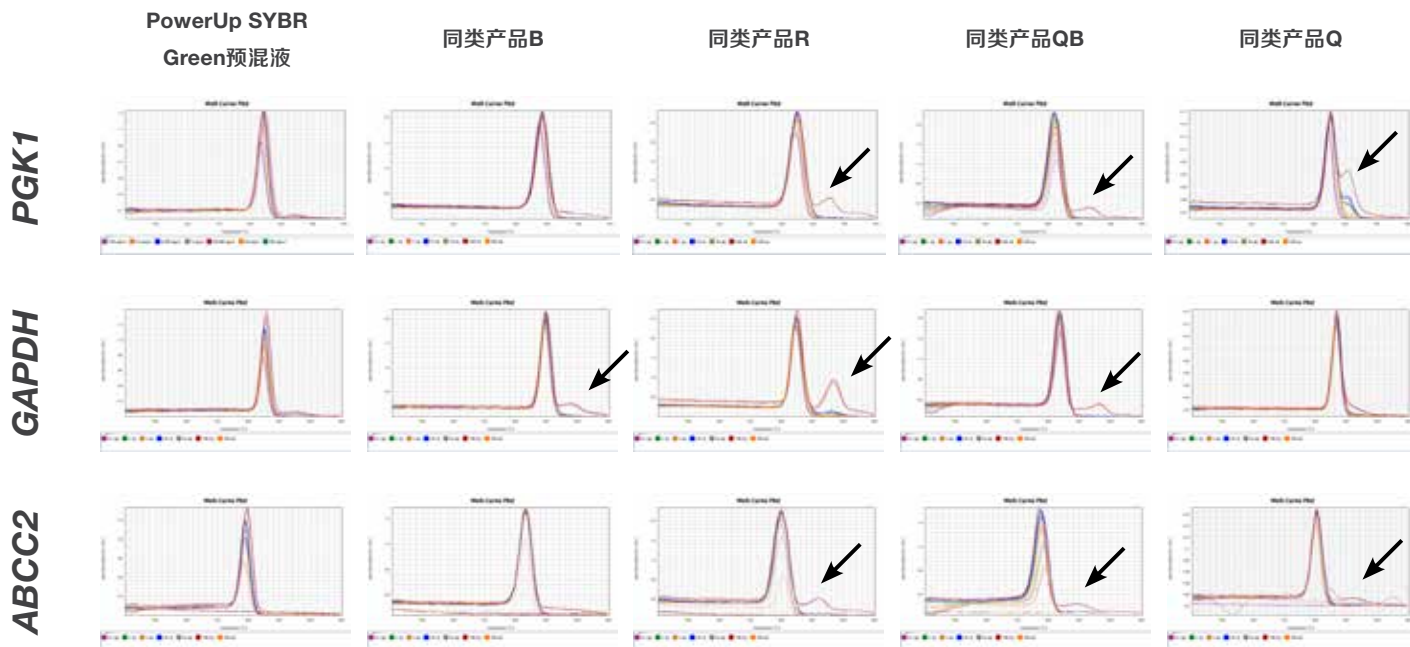


图1. 靶点特异性。在QuantStudio™ 7实时荧光定量PCR系统上，使用5种不同的预混液运行3种靶点的熔解曲线分析。采用制造商推荐的循环条件对人通用参照cDNA进行6-log稀释。同类产品B: SsoAdvanced™ Universal SYBR Green Supermix (Bio-Rad); 同类产品R: LightCycler™ 480 SYBR Green I 预混液(Roche); 同类产品QB: PerfeCTa™ SYBR Green SuperMix (Quanta Biosciences); 同类产品Q: QuantiTect™ SYBR Green PCR试剂盒(Qiagen)。

采用PowerUp SYBR Green预混液评估24种不同的引物组，在100%反应中获取单一熔解曲线，无需引物优化或重新设计。而在分析一些相同靶点时，在几种同类预混液中观察到了非特异性扩增，如图所示，熔解曲线上显示了多个峰(图1)。SYBR Green反应中的引物特异性验证是确保数据质量和有效性的关键[1]。PowerUp SYBR Green预混液的高特异性可使您缩短优化并重新设计引物以获取高质量数据的时间。

可重复性是实时荧光定量PCR中另一项重要的数据质量指标，在低模板浓度下，可重复性通常会下降，从而加剧了偏差的影响。但是，PowerUp SYBR Green预混液结合双重热启动Taq DNA聚合酶，可以在较宽的动态范围内针对各种靶点获得极佳的可重复性(图2)。在分析低丰度转录本和较小的倍数变化时，可重复性越高，统计学意义越大。

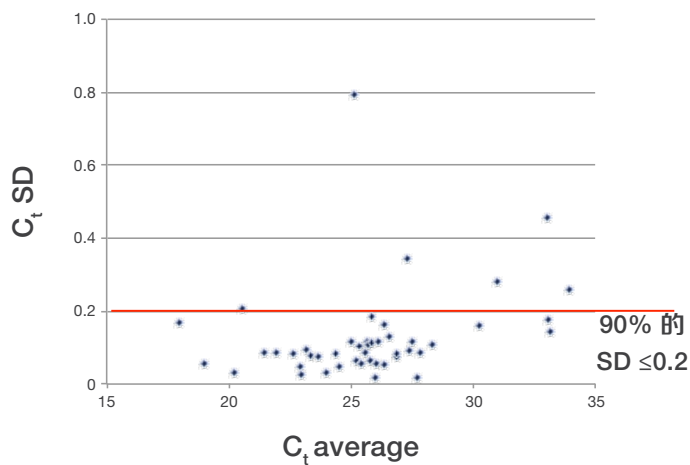


图2. 数据可重复性。在Applied Biosystems™ 7900系统上运行两个批次的PowerUp SYBR预混液，采用300 nM引物浓度针对24种实验分析分别运行四次反应。绘制各批次的平均Ct值与Ct值标准差曲线。平均Ct值高于34的没有被分析。

在宽动态范围内获得可靠的结果

PowerUp SYBR Green预混液在0.1 pg至100 ng cDNA范围内可获得稳定的结果。* 在宽动态范围内实现稳定扩增是qPCR方法的基础，包括采用 $\Delta\Delta Ct$ 方法进行基因表达分析。与同类预混液产品在高起始cDNA浓度下具有抑制作用，且在宽动态范围下的相关系数较低不同，PowerUp

表 1. 使用同类预混液进行 4 种实验分析的动态范围比较。数值表示使用各种预混液检测各靶点可以检测到的 10 倍稀释的线性范围。例如，每 10 μ L 反应可以检测从 100 ng 至 0.1 pg 的 7 个 10 倍稀释的人通用参照 cDNA。

试剂	GAPDH	ABCC2	ARL1	PGK1
PowerUp SYBR Green 预混液	5	5	4	6
同类产品 B1	5	3	4	4
同类产品 B2	5	3	4	4
同类产品 R	5	3	2	4
同类产品 QB	5	4	4	4
同类产品 Q	5	3	3	4

SYBR Green预混液在6 log范围内始终保持高效率，可以最大程度地提高数据质量的可信度(图3，表1)。

UNG用于残留污染控制

常规运行PCR的实验室中的污染是许多研究人员面临的主要问题，也是假阳性结果的最主要来源。PowerUp SYBR Green预混液中包括的UNG和dUTP可以降解此前扩增的PCR产物，有助于防止后续qPCR反应污染。PowerUp SYBR Green预混液中采用的热不稳定性UDG酶可以有效地控制污染，且不影响PCR产物的下游分析，如溶解曲线或凝胶分析。

广泛的仪器兼容性

PowerUp SYBR Green预混液可用于标准或快速循环模式，并可与所有Applied Biosystems实时荧光定量PCR仪器兼容。[†]它还可与Bio-Rad IQ™5、Roche LightCycler™ 480和Agilent Mx3005P™系统兼容。为获得最佳结果，引物浓度应在300–800 nM范围内。

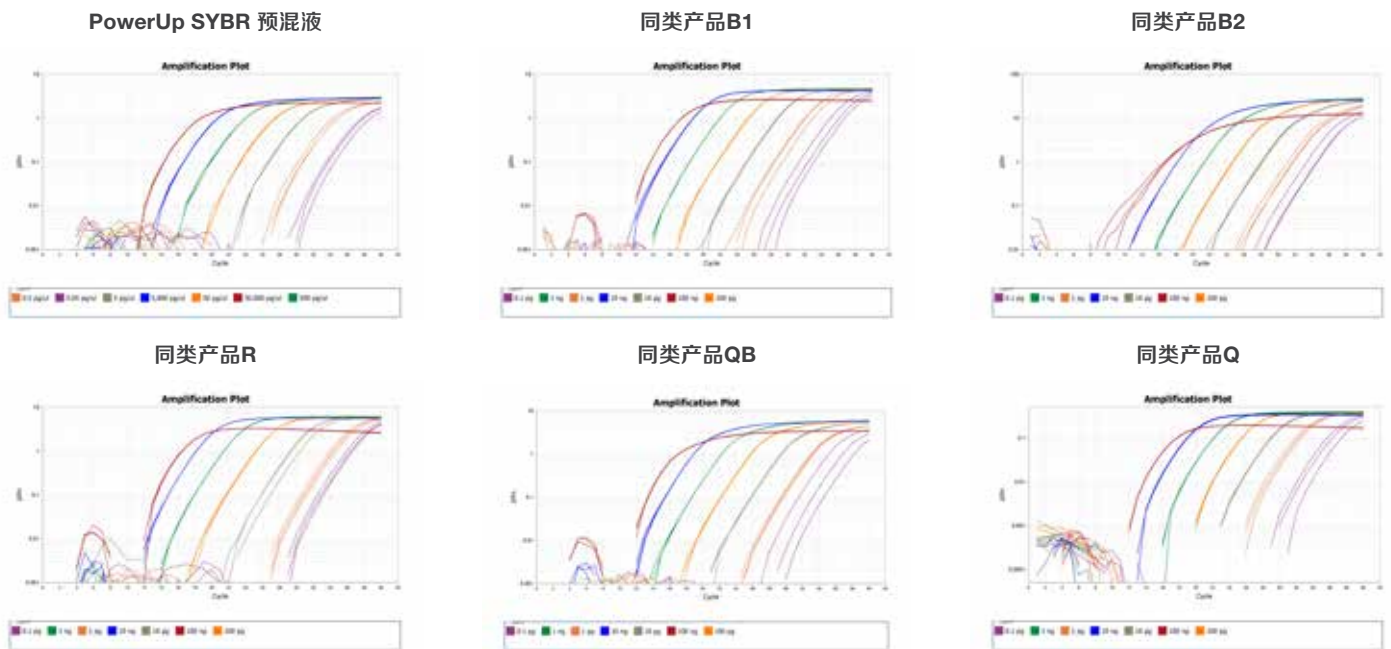


图3. PowerUp SYBR Green预混液可以在较宽的动态范围内获得稳定的性能。对人通用参照cDNA进行6-log稀释，获取ARL1基因扩增曲线。参照制造商推荐的实验方案，在QuantStudio™ 7实时荧光定量PCR系统上运行三次反应。采用各种预混液进行ARL1扩增生生成单一溶解曲线。曲线形状和最高起始cDNA的稀释点间较窄的空间，证明同类预混液的抑制作用更强。此外，几种同类预混液无法可靠地检测出最低的稀释点。同类产品B1: SsoAdvanced™ Universal SYBR Green Supermix (Bio-Rad); 同类产品B2: SsoFast™ EvaGreen™ SuperMix (Bio-Rad); 同类产品R: LightCycler™ 480 SYBR Green I 预混液(Roche); 同类产品QB: PerfeCTa™ SYBR Green SuperMix (Quanta Biosciences); 同类产品Q: QuantiTect™ SYBR Green PCR试剂盒(Qiagen)。

* 动态范围是样本及预混液中的分析和模板浓度特性; 结果各异。

† 推荐在除 Applied Biosystems 7900 系统外的所有仪器上进行快速或标准循环; 在 7900 系统上, 推荐采用标准循环。

预置反应可以保持72小时稳定

PowerUp SYBR Green预混液结合Dual-Lock Taq DNA聚合酶，在预置的反应中可保持稳定的性能达72小时(表2)。该预混液的稳定性可使用户在循环前灵活设置反应板，且不影响结果。[‡]

表 2. PCR 反应前的稳定性。在 StepOnePlus™ 实时荧光定量 PCR 系统上，采用 PowerUp SYBR Green 预混液从 1 ng 人 cDNA 中扩增几种靶点 (反应设置后立即扩增或室温避光孵育 72 小时后)。在 0 和 72 小时时间点可以生成这些实验分析的单一熔解曲线。

靶基因	时间 = 72 小时		ΔC_t
	时间 = 0 小时	时	
ADAM10	25.2	25.6	0.4
APOA1	24.9	24.9	0.0
CCNB1	26.0	26.1	0.1
COL1A1	23.9	23.9	0.1
CTGF	24.3	24.7	0.3
METTL3	26.3	26.7	0.3

订购信息

PowerUp SYBR Green 预混液	规格	反应次数 (20 μ L)	货号
迷你包装	1 mL管	100	A25741
2瓶装	2 x 1 mL瓶	200	A25779
1瓶装	1 x 5 mL瓶	500	A25742
5瓶装	5 x 1 mL瓶	500	A25780
2瓶装	2 x 5 mL瓶	1,000	A25776
10瓶装	10 x 1 mL瓶	1,000	A25918
5瓶装	5 x 5 mL瓶	2,500	A25777
大包装	1 x 50 mL瓶	5,000	A25743
10瓶装	10 x 50 mL瓶	5,000	A25778

[‡] PCR 反应前的稳定性不仅受预混液影响，还受实验分析的靶点的影响。为获得最大的可信度，研究人员应确认特定靶点的稳定性图谱。

参考文献

1. Bustin SA, Benes V, Garson JA et al. (2009) The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. Clin Chem 55:611–622.



赛默飞
官方微信



赛默飞
Applied Biosystems
官方微信

免费 800 820 8982
服务电话 400 820 8982

applied biosystems