

SYBR Green qPCR Master Mix

产品货号：SQ202

产品规格：1ml/支

产品介绍：

本产品使用抗体法热启动 Taq 酶制成的 2×SYBR Green 定量 PCR 预混液，产品中包含除引物以外的所有组分。添加了独特的 PCR 扩增增强剂及 PCR 稳定剂，降低了熔解温度，从而提高了血液等粗样品及高 GC 含量片段的扩增效果。本产品采用抗体法热启动 PCR，可快速进行热启动，也同时提高了 PCR 扩增特异性及稳定性。预混液中含有终浓度 1×ROX，使用简单方便。

操作流程：

- 1) 所有溶液室温避光融化，并轻轻振荡；快速离心以免挂壁。
- 2) 按如下配方在 PCR 管或 PCR 板中室温配制反应体系。

Component	Volume1	Volume2	Final concentration
SYBR Green qPCR Master Mix	10μl	25μl	1×
Forward Primer (10μM)	0.8μl	2μl	0.4μM
Reverse Primer (10μM)	0.8μl	2μl	0.4μM
Template	variable	variable	as required
RNase Free Water	variable	variable	
Total Volume	20μl	50μl	

- 3) 轻轻充分混合，并快速离心，以免挂壁。

PCR 反应程序：

两步法（高特异性）：优先推荐使用

Step 1	95°C	60 sec	}	40 cycles
Step 2	95°C	10 sec		
Step 3	60°C	30 sec		
(data collection)				
Step 4	Melting curve analysis			

三步法（高扩增效率）：

Step 1	95°C	60 sec ;	}	40 cycles
Step 2	95°C	15 sec ,		
Step 3	55°C - 65°C	15 sec ,		
Step 4	72°C	45 sec ,		
(data collection)				
Step 5	Melting curve analysis			

适用机型：

本试剂已经添加终浓度 $1\times\text{ROX}$ ，可用于除安捷伦定量 PCR 仪外几乎所有机型。

注意事项：

- 1) **模板用量** 若以 cDNA 为模板，可直接取原液或者稀释一定倍数后使用（具体根据所使用反转录试剂盒推荐的量添加），所加 cDNA 的体积不得超过反应体系的 $1/10$ ；若以基因组 DNA 为模板，建议模板量控制在 $1\text{ng}\sim 100\text{ng}$ 之间，如果基因组量加入过大，会检测出基因组本身的信号，导致基线上飘。
- 2) **引物设计** 引物长度为 $20\sim 30\text{mer}$ ，GC 含量为 $40\sim 60\%$ 或更高；扩增片段应 $\leq 200\text{bp}$ （最好 $\leq 150\text{bp}$ ），过长的片段容易导致扩增效率低下，而且容易导致非特异性反应，影响定量准确性；引物设计应尽量横跨内含子，以防止基因组 DNA 的扩增而引起假阳性。
- 3) **退火温度** 根据 T_m 值设置在 $55\sim 60^\circ\text{C}$ ，退火时间设置在 $5\sim 20$ 秒，退火时间长可以增加反应效率，时间过短会产生非特异性扩增。
- 4) 采用进口高品质热启动抗体技术，封闭效率高，特异好，以上预变性时间足够。与纯化学修饰热启动比，预变性时间大大降低，不仅缩短了 PCR 时间，还降低了模板、引物、酶等成分降解或活性降低的风险。

储存条件：

-20°C 长期避光保存；若短期使用， 4°C 长期避光保存 2 个月。