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℃	60 sec	
Step 2	95℃	10 sec	40 cycles
Step 3	60℃	30 sec	
	(data collection)		
Step 4	Melting curve analysis		

三步法（高扩增效率）：

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

适用机型：

本试剂已经添加终浓度 1×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 1ng~100ng 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 20～30mer，GC 含量为 40～60%或更高； 扩增片段应≤200bp（最好≤150bp），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 Tm 值设置在 55-60℃，退火时间设置在 5-20 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℃长期避光保存；若短期使用，4℃长期避光保存 2 个月。