

**2x SYBR Green qPCR Mix (With 100x ROX)****产品简介:**

2x SYBR Green qPCR Mix 是 SYBR Green I 嵌合染料法专用的 qPCR 试剂，为 2x 预混液，包含除引物和 DNA 样品以外的所有 qPCR 组分，可减少操作步骤，缩短加样时间，降低污染几率。其核心组分是全新的 Hotmaster Taq DNA 聚合酶，配合精心优化的 Buffer 体系，有效抑制非特异性扩增，可对宽广浓度范围的模板进行准确定量，获得稳定可靠的 qPCR 结果，具有灵敏度高、特异性强、稳定性好等特点。

本产品含有独立包装参比染料 100x ROX (50 $\mu$ mol/ $\mu$ l)，用于消除信号本底以及校正孔与孔之间产生的荧光信号误差，不同仪器所需 ROX Reference Dye 浓度不同。

**产品内容:**

Components	U1015-500 500 rxns (20 $\mu$ l/rxn)	U1015-2500 2500 rxns (20 $\mu$ l/rxn)
2x SYBR Green qPCR Mix	1.25ml*4	1.25ml*20
100x ROX	100 $\mu$ l	100 $\mu$ l*5
RNase-Free H2O	5ml	5ml*5

**保存条件:**

-20 $^{\circ}$ C 保存，有效期 24 个月，使用前充分融解，轻柔颠倒混匀。短期使用可放在 4 $^{\circ}$ C，避免反复冻融。

**快捷用法:**

- 需要高浓度 ROX 的机型（终浓度为 0.5  $\mu$ mol/ $\mu$ l）：每 1.25ml 2x SYBR Green qPCR mix 加入 25 $\mu$ l 100x ROX，充分混匀后，可以直接使用。
- 需要低浓度 ROX 的机型（终浓度为 0.05  $\mu$ mol/ $\mu$ l）：每 1.25ml 2x SYBR Green qPCR mix 加入 2.5 $\mu$ l 100x ROX，充分混匀后，可以直接使用。

**操作步骤:**

- 将 DNA 模板、引物、2x SYBR Green qPCR Mix、RNase-Free H2O 溶解并置于冰上备用。
- 冰上配制 qPCR 反应体系：（以 20 $\mu$ l 反应体系为例）

Components	Volume(20 $\mu$ l)	Final Concentration
2x SYBR Green qPCR Mix	10 $\mu$ l	1 $\times$
DNA Template	Variable	As required
Forward Primer (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M each
Reverse Primer (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M each
RNase-Free H2O	Up to 20 $\mu$ l	Not applicable

注意:

- 1) 推荐模板加样量为 1-2  $\mu\text{l}$  / 20 $\mu\text{l}$  反应体系, cDNA 原液 $\leq$ 总反应体系的 10%, 基因组 DNA 的量为 10 - 100 ng。因不同种类的 DNA 模板中含有的靶基因拷贝数不同, 可对模板进行梯度稀释, 以确定最佳的模板使用量。
- 2) 通常推荐引物浓度为 0.2  $\mu\text{M}$ , 就可以得到较好的结果, 反应效果不佳时可在 0.1 - 1.0  $\mu\text{M}$  范围内进行调整。扩增效率不高的情况下, 可提高引物浓度; 发生非特异性反应时, 可降低引物浓度, 由此优化反应体系。
- 3) 举例为常规 PCR 反应体系和反应程序, 实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

### 3. qPCR 反应程序

qPCR 循环 (二步法)			qPCR 循环 (三步法)		
预变性	94°C	2-3 min	预变性	94°C	2-3 min
变性	94°C	5-10 sec	变性	94°C	10-20 sec
退火/延伸	60°C	30-34 sec	退火	55 - 60°C	10-20 sec
			延伸	72°C	20-30 sec
融解曲线分析 按仪器推荐程序			融解曲线分析 按仪器推荐程序		

注意:

- 1) 本产品兼容性强, 绝大多数情况下使用二步法和三步法均可获得良好效果。建议采用两步法 qPCR 反应程序。一般来说, 二步法扩增特异性高, 三步法扩增效率高。如果融链曲线较差, 可以尝试两步法扩增或提高退火温度; 如果因使用  $T_m$  值较低的引物等原因, 得不到良好的实验结果时, 可尝试加长延伸时间或者进行三步法 PCR 扩增。
- 2) 根据引物的  $T_m$  值进行退火&延伸 (退火) 温度的设定;
- 3) 延伸 (退火&延伸) 时间的设置还需要根据您所使用的 qPCR 仪所需要的最短数据采集时间自行调整。
- 4) 融解曲线分析请以所使用的荧光定量 PCR 仪推荐的程序进行设定。

联系我们:

免费电话: 400-681-8582 021-64228065

传真: 021-64228066

联系电话: 13918187419

QQ: 1296725867

地址: 上海市松江区博安路 377 号立同国际商务 3019-3025 室

公众号



官网

