

2×SYBR Green qPCR Mix

产品简介

本产品是采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 Real-Time PCR 的专用试剂，可对目标 DNA 进行快速、特异性的定量检测。优化的预混液可缩短 Real-Time PCR 的反应时间，适用于标准或快速 PCR 仪。2×SYBR Green qPCR Mix 采用了特殊抗体修饰的 Hot Start DNA 聚合酶，配合独特的快速 PCR Buffer 体系可确保在所有的 Real-Time PCR 仪上进行灵敏的 qPCR 反应，同时具有高扩增效率，高扩增特异性和广泛的可信范围的特点。本品经检测无外源核酸酶活性。PCR 方法检测无宿主 DNA 和表达载体 DNA 残留，能有效扩增人类基因组中的单拷贝基因。

2×SYBR Green qPCR Mix 为 2 倍浓度的预混液，PCR 反应液配制时，取体系 0.5 倍体积的 Mix，加入模板、引物、用水补足体系便可进行 Real-Time PCR 反应，操作简单方便。

产品组成

| 名称 编号 | FSF0007-1ml | FSF0007-5ml | Storage |
|--------------------------------|-------------|-------------|---------|
| 2×SYBR Green qPCR Mix (No Rox) | 1ml | 1×5ml | -20℃ |
| 50×ROX Reference Dye | 40ul | 200ul | -20℃ |
| RNase-Free diH ₂ O | 1ml | 1×5ml | -20℃ |
| 使用说明书 | 1 份 | | |

【注意】：-20℃ 保存至少 12 个月，使用前充分融解混匀。短期使用可放在 4℃，避免反复冻融。

适用机型

适用 ROX 终浓度为 1X 的机型：

ABI: 5700, 7000, 7300, 7700, 7900HT Fast, StepOne™, StepOne Plus™;

适用 ROX 终浓度为 0.1X 的机型：

ABI: 7500, 7500 Fast, ViiA™7, QuantStudio™3 and 5, QuantStudio™6,7,12k Flex;

Stratagene MX3000P™, MX3005P™, MX4000P™;

无需 Rox 校正的机型：

Bio-Rad: CFX96, CFX384, iCycler iQ, iQ5, MyiQ, MiniOpticon, Opticon, Opticon 2, Chromo4;

Eppendorf: Mastercycler ep realplex, realplex 2 s;

Qiagen: Corbett Rotor-Gene Q, Rotor-Gene 3000, Rotor-Gene 6000;

Roche Applied Science: LightCycler 480, LightCycler 2.0; Lightcycler 96;

Thermo Scientific: PikoReal Cycler; Cepheid: SmartCycler; Illumina: Eco qPCR.

使用方法

1. 取本品室温解冻，也可提前放置于 2-8℃，解冻后翻转混匀。

2. 配制反应液时，试剂请于冰上放置。

取体系 0.5 倍体积的 Mix,加入模板和引物，用 diH₂O 补足体积，可简短离心，以确保反应液均在反应管

底部, 即可进行 Real-Time PCR 反应。

反应体系举例:

| 体系成分 | 用量 | 用量 |
|------------------------------------|----------|------------|
| 2x SYBR qPCR Mix (No Rox) | 2.5ul | 10 μ l |
| PCR Forward Primer (10 uM) | 1ul | 0.4ul |
| PCR Reverse Primer(10 uM) | 1ul | 0.4ul |
| 50 \times ROX Reference Dye | * | * |
| 模板 DNA | * | * |
| ddH ₂ O to final volume | 补充至 50ul | 补充至 20ul |

【注】: 最佳反应体系和最佳反应条件应根据实际需要设定。

Rox 的添加, 可根据不同仪器型号进行选择, 具体可参考【适用机型】。为使加入量准确, 建议将 ROX 进行稀释后再行添加。

基本特性: 本制品兼容性强, 适用于不同厂家、型号的荧光定量 PCR 仪, 绝大多数情况下使用二步法和三步法均可获得良好效果。在实际使用中可以根据机型推荐和具体情况对程序加以微调。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;若因使用 Tm 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。

PCR 扩增标准程序设置:

| PCR 循环(二步法) | | | | PCR 循环(三步法) | | | |
|-------------|-----------------|---------|----------|-------------|--------------------|---------|----------|
| 预变性 | 95 $^{\circ}$ C | 1min | 40cycles | 预变性 | 95 $^{\circ}$ C | 1min | 40cycles |
| 变性 | 95 $^{\circ}$ C | 10sec | | 变性 | 95 $^{\circ}$ C | 10sec | |
| 退火/延伸 | 60 $^{\circ}$ C | 20sec * | | 退火 | 55-60 $^{\circ}$ C | 10sec | |
| | | | | 延伸 | 72 $^{\circ}$ C | 15sec * | |

【注】a, 建议采用两步法进行反应, 如果该程序得不到良好的实验结果时, 扩增性能较差时, 再进行 PCR 条件的优化或者尝试进行三步法 PCR 扩增反应。

b, 荧光信号采集 (*), 时间设定请按照仪器使用说明书要求进行实验程序设置。

c, 熔解曲线通常情况下可以使用仪器默认程序。

注意事项

- 1) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
- 2) 分取试剂时务必使用新的枪头 (Tip), 以防止样品间污染, 同时, 要使用精确、量程适合的移液枪。
- 3) 当同时需要进行数次反应时, 应先配制各种试剂的混合液, 然后再分装到每个反应管中, 可使所取的试剂体积更准确, 减少试剂损失, 同时也可以减少实验操作或实验之间产生的误差。
- 4) 本品室温解冻, 解冻后翻转混匀即可, 避免产生气泡, 配制反应液时, 试剂请于冰上放置。
- 5) 通常引物终浓度为 0.2 μ M 可以得到较好结果。反应性能较差时, 可以在 0.1~1.0 μ M 范围内调整引物浓度。