



2 x qPCR Mix (Green)

产品描述

本产品是 SYBR Green I 嵌合染料法专用 qPCR 试剂, 为 2× 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, 降低污染概率。

其核心组分是经过改良后的双封闭的热启动 DNA 聚合酶, 配合精心优化的 Buffer 体系, 显著提高了产品的扩增特异性和扩增效率, 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。本产品中含有特殊的 ROX Reference Dye, 适用于所有 qPCR 仪器 (详情见官网介绍), 无需在不同仪器上调整 ROX 的浓度, 使用更加方便快捷。

订购信息

产品名称	货号	规格
2 x qPCR Mix (Green)	AN19L918	1 mL
2 x qPCR Mix (Green)	AN19L919	5*1 mL

产品组分

货号	产品组分	规格
AN19L918	2 x qPCR Mix (Green)	1 mL
	Nuclease-Free Water	1 mL
AN19L919	2 x qPCR Mix (Green)	5*1 mL
	Nuclease-Free Water	5*1 mL

运输与保存

蓝冰运输。-20°C 避光保存, 有效期 24 个月。【注】: 避免反复冻融。

使用方法

1. 建议的 qPCR 体系

组分	使用量	终浓度
2 x qPCR Mix (Green)	10 μ L	1 x
正向引物 (10 μ M) ⁽¹⁾	0.4 μ L	0.2 μ M
反向引物 (10 μ M) ⁽¹⁾	0.4 μ L	0.2 μ M
DNA 模板 ⁽²⁾	X μ L	10~200 ng/20 μ L
Nuclease-Free Water	To 20 μ L ⁽³⁾	-

(1) 通常推荐的引物终浓度为 0.2 μ M, 反应效果不佳时可在 0.1~1 μ M 范围内进行调整;

(2) 推荐模板加样量为 1~2 μ L, 如模板类型为未稀释 cDNA 原液, 模板添加量不应超过总反应体系的 10%。不同种类 DNA 模板中含有的靶基因拷贝数目不同, 必要时可进行梯度稀释, 以确定最佳的 DNA 模板添加量。

(3) 推荐加样体系为 20 μ L 或以上, 加样体系总体积减少容易导致扩增重复性变差。

2. 建议的 qPCR 体系



两步法流程	温度	时间
预变性 ⁽¹⁾	95°C	1 min
变性	95°C	10 sec
退火&延伸 ⁽²⁾	60°C	30 sec
40 Cycles		
熔解曲线 ⁽³⁾	使用仪器默认采集程序	

三步法流程	温度	时间
预变性 ⁽¹⁾	95°C	1 min
变性	95°C	10 sec
退火 ⁽²⁾	55~65°C	10 sec
延伸 ⁽²⁾	72°C	30 sec
40 Cycles		
熔解曲线 ⁽³⁾	使用仪器默认采集程序	

快速程序流程	温度	时间
预变性 ⁽¹⁾	95°C	30 sec
变性	95°C	5 sec
退火&延伸 ⁽²⁾	60°C	30 sec
40 Cycles		
熔解曲线 ⁽³⁾	使用仪器默认采集程序	

- (1) 本产品中所用的热启动 DNA 聚合酶需热激活处理以释放酶活, 预变性时间至少不低于 30sec (30 sec~10min 均可), 预变性时间设置较短会导致酶活释放不完全从而影响扩增反应;
- (2) 根据引物的 T_m 值进行退火&延伸 (退火) 温度的设定; 若扩增片段在 200 bp 以内, 退火&延伸 (延伸) 时间可以设置为 15 sec; 此外, 退火&延伸 (延伸) 时间的设置还需根据您使用的 qPCR 仪所需要的最短数据采集时间自行调整;
- (3) 不同 qPCR 仪的熔解曲线采集程序有差别, 一般可使用仪器默认的熔解曲线采集程序。

【注】: 若使用默认反应条件反应性能不佳时, 则需要对反应条件进行优化, 可以从引物浓度以及扩增程序两个方面进行:

- (1) 引物浓度调整: 当引物终浓度在 0.1~1.0 μM 范围之间变化时, 引物浓度越低, 扩增特异性越高, 但扩增效率会有所下降。
- (2) 扩增程序优化: 需提高扩增特异性, 可使用两步法程序或提高退火温度; 需提高扩增效率, 可使用三步法程序或延长延伸时间。

注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 因 Mix 中预混有荧光物质, 储存时应注意避光保存。
3. 使用前应将 Mix 充分混匀, 但请勿长时间剧烈震荡以免出现较多气泡。
4. 本产品中已预混 ROX Reference Dye, 使用时无需再额外添加。

相关产品推荐

EZ PCR 直扩鼠尾裂解液 (货号: AN11L227)

2 x Taq PCR Master Mix (Blue) (货号: AN11L818)