



2 x qPCR Mix (SYBR 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。其核心组分是经抗体修饰的热启动 Taq DNA 聚合酶, 配合精心优化的 Buffer 体系以及 PCR 反应促进因子, 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。

预混液中含有独特校正染料, 与一系列 qPCR 设备兼容, 包括需要 ROX 校正的仪器, 实验操作过程中不需要额外添加染料来校正仪器, 使用更加方便快捷。

订购信息

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

产品组分

组分	AN19L918	AN19L919
A. 2 x qPCR Mix	1mL	5*1mL
B. Nuclease-Free Water	1mL	5*1mL

运输与保存

蓝冰运输。-20°C 避光保存, 有效期 24 个月。**注:** Mix 融解后可在 4°C 避光条件下稳定存放一个月, 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 (SYBR Green)	10 μ L	1 x
正向引物 (10 μ M) ^(a)	0.4 μ L	0.2 μ M
反向引物 (10 μ M) ^(a)	0.4 μ L	0.2 μ M
DNA 模板 ^(b)	X μ L	10~200 ng/20 μ L
Nuclease-Free Water	To 20 μ L ^(c)	-

(a) 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;

(b) 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。

(c) 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 反应程序 (可根据机型适当调整)



(1) 两步法流程:

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

(2) 三步法流程:

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

(a) 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;

(b) 不同 qPCR 仪的熔解曲线采集程序有差别, 一般可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。

3. 引物设计原则

- ① 扩增产物长度建议控制在 80~200 bp;
- ② 引物长度为 18~25 bp;
- ③ 正向引物和反向引物的 T_m 值相差不超过 1°C 为佳, T_m 值控制在 58~62°C 为佳;
- ④ 引物的 GC 含量控制在 40%~60% 之间;
- ⑤ 引物 A、G、C、T 整体分布尽量要均匀, 避开 T/C 或者 A/G 的连续结构 (特别是 3' 端);
- ⑥ 引物 3' 端最后一个碱基最好为 G 或者 C;
- ⑦ 避开引物内部或者两条引物之间的互补序列;
- ⑧ 使用 NCBI BLAST 功能检索确认引物的特异性。

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, 其反应体系配制过程应避免强光照射。
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。