



## SYBR Color qPCR Mix

### 产品描述

Taq Visual SYBR qPCR Premix (Universal) 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, 降低污染几率。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, 特异性强、扩增效率高, 可有效抑制非特异性扩增, 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。本品已含有通用校正染料, 与绝大多数 qPCR 设备兼容, 不需要额外添加染料来校正仪器。

本品可利用不同染料混合后产生的变色效应, 追踪移液过程, 从而显著减少移液错误。Taq Visual SYBR qPCR Premix 中包含蓝色染料, 10× Dilution Buffer 中包含黄色染料。当 Taq Visual SYBR qPCR Premix (蓝色) 中加入了用 Dilution Buffer 稀释的模板 (黄色) 后会产生蓝色→绿色的变色效应, 从而可以根据液体颜色准确判断是否已加入模板。

### 订购信息

产品名称	货号	规格
SYBR Color qPCR Mix	AN19L929	5*1mL

### 产品组分

组分	规格
A. Taq Visual SYBR qPCR Premix (Universal)	4*1.25 mL
B. 10× Dilution Buffer 1 ml 5×1 ml	1mL

### 运输与保存

蓝冰运输。短期 4°C 避光保存, 有效期 1 个月; 长期 -20°C 避光保存, 有效期 24 个月。【注】: 避免反复冻融。

### 使用方法

#### 1. 模板稀释

使用过程中, 如需要进行移液追踪, 则根据下表选择合适的方式提前添加 Dilution Buffer 至模板中, 然后进行 qPCR 检测; 如不需要进行移液追踪, 则不使用 Dilution Buffer 即可。

DNA 模板状态	10× Dilution Buffer 使用方式	模板中 Dilution Buffer 浓度
固体	使用 ddH <sub>2</sub> O 将 10× Dilution Buffer 稀释至 1 ×, 使用 1× Dilution Buffer 溶解 DNA	1 ×
溶液	如有必要, 先使用 ddH <sub>2</sub> O 将模板稀释至目标浓度, 然后在每 9 μl 模板中加入 1 μl 10× Dilution Buffer	1 ×



【注】：如果 Dilution Buffer 使用不当，有可能影响 qPCR 结果。

## 2. 建议的 qPCR 反应体系

试剂	使用量	终浓度
Taq Visual SYBR qPCR Premix	10 $\mu$ L	1 x
正向引物 (10 $\mu$ M) <sup>(a)</sup>	0.4 $\mu$ L	0.2 $\mu$ M
反向引物 (10 $\mu$ M) <sup>(a)</sup>	0.4 $\mu$ L	0.2 $\mu$ M
DNA 模板 <sup>(b)</sup>	X $\mu$ L	10~200 ng/20 $\mu$ L
Nuclease-Free Water	To 20 $\mu$ L	-

(a) 通常推荐的引物终浓度为 0.2  $\mu$ M，可在 0.1~1  $\mu$ M 范围内调整；

(b) 如使用 Dilution Buffer 进行加样追踪，模板体积请勿超出 2~5  $\mu$ L/20  $\mu$ L reaction。如果模板用量低于 2  $\mu$ L/20  $\mu$ L reaction，会造成显色偏淡，影响追踪效果；如果模板用量高于 5  $\mu$ L/20  $\mu$ L reaction，Dilution Buffer 中的成分可能会干扰 qPCR 反应。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。【注】：当模板类型为未稀释 cDNA 原液时，不论其是否包含 1 $\times$  Dilution Buffer，使用体积均不应超过 qPCR 反应总体积的 1/10，即 2  $\mu$ L/20  $\mu$ L reaction。

## 3. 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 $^{\circ}$ C	30 s
变性	95 $^{\circ}$ C	10 s
退火&延伸 <sup>(a)</sup>	60 $^{\circ}$ C	30 s
40 Cycles		
熔解曲线 <sup>(b)</sup>	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 $^{\circ}$ C	30 s
变性	95 $^{\circ}$ C	10 s
退火 <sup>(a)</sup>	55~65 $^{\circ}$ C	10 s
延伸 <sup>(a)</sup>	72 $^{\circ}$ C	30 s
40 Cycles		
熔解曲线 <sup>(b)</sup>	使用仪器默认采集程序	

(a) 根据引物的 T<sub>m</sub> 值进行退火& 延伸 (退火) 温度的设定；若扩增片段在 200bp 以内，退火& 延伸 (延伸) 时间可以设置为 15 s；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。

## 4. 实验优化

① 引物浓度调整



当引物终浓度在 0.1~1.0  $\mu\text{M}$  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。

## 5. 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 两条  $T_m$  值相差不超过  $1^\circ\text{C}$ ,  $T_m$  值控制在  $58\sim 62^\circ\text{C}$ ;
- ④ 引物的 GC 含量控制在 40%~60%;
- ⑤ 引物 A、G、C、T 整体分布尽量要均匀, 避免 T/C 或者 A/G 的连续结构 (特别是 3' 端), 3' 端最后一个碱基最好为 G 或者 C;
- ⑥ 避免引物内部或者两条引物之间的互补序列;
- ⑦ 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。

## 相关产品推荐

EZ PCR 直扩鼠尾裂解液 (货号: AN11L227)

2 x qPCR Mix (SYBR Green) (货号: AN19L918)