

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01013

产品介绍

SYBR Green qPCR Master Mix (2×) 是一种结合于所有 dsDNA 双螺旋小沟区域的具有绿色激发波长的染料。SYBR Green qPCR Master Mix (2×) 与 dsDNA 结合荧光信号会增强 800~1000 倍，是一种常用的 qPCR 荧光染料。具有高灵敏度，信噪比高等优势，可应用于基因表达差异分析，基因芯片等。

应用范围

QPCR 定量

储运条件

-20 °C 避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

产品特点

特异性强：灵敏度高，熔解曲线无双峰，拥有良好的特异性；

信噪比高：SYBR Green qPCR Master Mix (2×) 荧光值高、荧光信号强。

注意事项

- 1.参照染料 ROX：对于某些固定型号的仪器，必须添加 ROX 才能精确测定 Ct 值。ROX 的使用浓度可以参照下表。ROX 会给熔解曲线分析造成一定的背景干扰，因此，为了避免 ROX 杂峰干扰，在应用程序的“Passive Reference Dye”中不要选择检测 ROX 荧光值选项，然后进行数据的收集、分析。
- 2.退火温度：退火温度应根据引物 T_m 值设定，通常是 50~60 °C 为佳。不过，引物 T_m 值（和扩增温度）应该设计尽可能地接近 60 °C（但仍在 50~60 °C 范围内），减少退火和变性温度之间的差距。这样温度增加所需时间更少，进而扩增效率更高。
- 3.本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 4.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

1.耗材

96 孔 PCR 板

2.试剂

(1) ddH₂O (2) 模板 (3) 引物

3.仪器

QPCR 仪器

操作步骤

- 1.取出 SYBR Green qPCR Master Mix (2×)，引物，模板，RNase-free 水，恢复至室温，轻轻涡旋，充分混匀。
- 2.按照如下体系制备反应混合液

反应组分	20 μ L 反应体系	终浓度
2 $\times$ SYBR Green Master Mix	10 μ L	1 $\times$
F, R 引物	适量	0.2~1 μ M
模板	适量	见注 (2)
10 $\times$ ROX	适量	见表 1
H2O	补足至 20 μ L	N/A

- 注：(1) 引物推荐浓度为 0.6 μ M，但不同引物请自行摸索最佳使用浓度。
- (2) 模板浓度：DNA 模板的添加量通常在 100 ng 以下。因不同种类的 DNA 模板中含有的靶基因的拷贝数不同，必要时可进行梯度稀释，确定合适的 DNA 模板添加量。cDNA 作为模板时的添加量不要超过 PCR 反应总体积的 10%。
- 3.轻轻涡旋混匀反应混合液，转移固定体积至 PCR 管。
- 4.您可以根据扩增模板的性质和仪器的功能，选择以下三个程序之一进行实验。

(1) 两步快速扩增法

这个程序适用于大多数引物 T_m 为 60 $^{\circ}$ C 的扩增，溶解曲线遵循您所用仪器提供的标准流程执行。

程序	温度	时间	循环
预变性	95 $^{\circ}$ C	120 s	1
变性	95 $^{\circ}$ C	5 s	40
退火	60 $^{\circ}$ C	30 s	

(2) 三步扩增法

这个程序适用于扩增温度比退火温度高的实验。例如，如果扩增片段有相对较长的引物，容易产生非特异性的扩增，在更高的温度下进行延伸可以降低非特异性扩增。溶解曲线遵循您所用仪器提供的标准流程执行。

程序	温度	时间	循环
预变性	95 $^{\circ}$ C	120 s	1
变性	95 $^{\circ}$ C	5 s	40
退火	60 $^{\circ}$ C	15 s	
延伸	72 $^{\circ}$ C	30 s	

- 5.将待检样品，放入 PCR 仪，运行 PCR 程序。
- 6.分析实验数据。