

## 2× Universal SYBR Green qPCR Mix

### 荧光定量 PCR 试剂盒

货号: Cat.No: M7205    Size: 5 X 1ml

#### 产品介绍

2× Universal SYBR Green qPCR Mix 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，降低污染风险。其核心组分是经抗体修饰的热启动 Taq DNA 聚合酶，配合优化的 Buffer 体系以及 PCR 反应促进因子，使产品具有特异性强、扩增效率高等特点，有效抑制非特异性扩增，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。

#### 反应体系

成分	体积	浓度
2× Universal SYBR Green qPCR Mix	10 uL	1 X
正向引物	0.4 uL	0.2 uM
反向引物	0.4 uL	0.2 uM
cDNA 模板	1 - 2 uL	10 - 200 ng / 20 uL
Nuclease-Free Water	to 20 uL	-

#### 操作步骤

##### 两步法

步骤	反应温度	反应时间	
预变性	95°C e	30 sec	
变性	95°C	10 sec	← 40 Cycles
退火&延伸 <sup>a</sup>	60°C	30 sec	
熔解曲线 <sup>b</sup>	使用仪器默认采集程序		

##### 三步法

步骤	反应温度	反应时间	
预变性	95°C e	30 sec	
变性	95°C	10 sec	← 40 Cycles
退火 <sup>a</sup>	55-65°C	10sec	
延伸 <sup>a</sup>	72°C	30 sec	
熔解曲线 <sup>b</sup>	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, 一般可使用仪器默认的溶解曲线采集程序。

### 优化建议

若使用默认反应条件反应性能不佳时, 则需要进行反应条件的优化, 可以从引物浓度及扩增程序两个方面进: 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。

### 保存条件

-20°C 避光长期保存, 且避免反复冻融。

### 注意事项

1. 因 Mix 中预混有染料, 其保存或反应体系配制过程应避免强光照射。
2. 使用前上下颠倒轻轻混匀 Mix, 请勿涡旋振荡混匀, 避免产生过多气泡。