



## 2× SYBR Green qPCR ProMix

货号: S013A/B

- 产品内容

| 组分                        | S013A | S013B   |
|---------------------------|-------|---------|
| 2× SYBR Green qPCR ProMix | 1mL   | 1mL × 5 |

- 储存条件

收到本产品后, 请立即置于-20℃保存。从-20℃取出使用时, 将冻存的 2× SYBR Green qPCR ProMix 融解, 然后轻轻颠倒混匀, 待溶液完全均一后再行使用。如解冻后没有使用, 须彻底混匀后重新冷冻。

## ● 产品简介

本品是应用嵌合荧光法进行实时荧光定量 PCR (qPCR) 和两步法反转录 qPCR (RT-qPCR) 的专用 2× 即用型优化预混液, 内含热启动 Taq DNA 聚合酶、SYBR Green I 荧光染料、Mg<sup>2+</sup>、dNTPs、优化缓冲液和稳定剂等。使用本产品进行 qPCR 反应, 可以在宽广的定量区域内得到良好的标准曲线, 对靶基因进行准确定量、检测, 重复性好, 可信度高。

本品所用 Hotstart Taq DNA 聚合酶是一种基于化学修饰技术改良的重组 Taq DNA 聚合酶。室温下该酶的活性位点被完全封闭, 不具有聚合酶活性, 必须在 95°C 加热 10min 才能被完全激活并发挥作用, 从而有效避免引物二聚体和非特异性扩增, 实现 PCR 扩增最大精准化, 该特性显著优于基于核酸适配体或抗体修饰技术的热启动酶。因此, 本品是分子诊断和其它 PCR 应用的理想选择。

## ● 适用机型

本品不含用以校正孔与孔之间产生的荧光信号误差的 ROX Reference Dye, 适用于以下荧光定量 PCR 仪:

Bio-Rad 品牌: Bio-Rad CFX96™, CFX384™, iCycler iQ™, iQ™5等;  
Roche 品牌: LightCycler 480 System;  
Takara 品牌: Thermal Cycler Dice Real Time System 系列;  
Eppendorf 品牌: Mastercycler® ep realplex, realplex 2 s;  
其他不需要添加 ROX Reference Dye 的荧光定量 PCR 仪。

## ● 实验时注意事项

- 1) 本品属于化学修饰的热启动酶, 95°C 预变性满 10min 方能充分释放 DNA 聚合酶活性。
- 2) 如果试剂没有混匀, 其反应性能会有所下降。使用时请上下颠倒轻轻混匀, 请不要使用振荡器进行混匀, 尽量避免出现泡沫, 并经瞬时离心后使用。
- 3) 引物纯度对反应特异性影响很大, 建议使用 PAGE 级别以上纯化的引物。
- 4) 20 μL 反应体系中, cDNA 模板的使用量一般小于 100 ng, 基因组 DNA 模板量一般小于 50 ng, 逆转录产物作为模板时, 使用量应不超过 PCR 体系终体积的 10%。

## 操作方法

### 1. 反应体系准备

- 1) 将 2× SYBR Green qPCR ProMix, 模板, 引物和 Nuclease Free ddH<sub>2</sub>O 等试剂在室温下溶解, 上下颠倒混匀后离心至管底。
- 2) 建议在冰上进行 Real-Time PCR 反应液的配制, 反应体系如下所示。

|                                      |          |
|--------------------------------------|----------|
| Add Nuclease-Free ddH <sub>2</sub> O | To 20 μL |
| 2× SYBR Green qPCR ProMix            | 10 μL    |
| Forward Primer (10μM) ☆              | 0.5 μL   |
| Reverse Primer (10μM) ☆              | 0.5 μL   |
| cDNA 模板 ☆☆                           | Optional |

☆☆ 引物终浓度为 0.25 μM 可以在大多数体系中获得良好的扩增结果。扩增效率不高时, 可增加 PCR 反应体系中的引物浓度; 发生非特异扩增时, 可适当减少 PCR 反应体系中的引物浓度。需要进一步优化引物浓度的, 可以在 0.2-0.5 μM 范围内调整。

☆☆ 如模板类型为未稀释 cDNA 原液, 使用体积不应超过 qPCR 反应总体积的 1/10。

- 3) 盖上反应管, 轻柔混匀。可短暂离心, 确保所有组分均在管底。

### 2. Real-Time PCR 反应程序设定

建议采用如下反应程序:

| 阶段     | 温度               | 时间        | 循环  | 荧光信号采集 |
|--------|------------------|-----------|-----|--------|
| 预变性    | 95℃              | 10 min    | 1×  | 否      |
| PCR 反应 | 95℃              | 10 Sec    | 40× | 否      |
|        | 60℃ <sup>Δ</sup> | 30 Sec☆☆☆ |     | 是      |
| 熔解曲线分析 |                  |           |     |        |

☆☆☆ 部分 qPCR 仪器的退火及延伸时间必须设定在 30 Sec 以上时, 请以最小值设定即可。

### 3. 设置好反应程序后, 将反应体系置于荧光定量 PCR 仪中, 并立即运行反应程序。

技术咨询: QQ/973107308

Tel/18927539098

Email/enzyvalley@163.com