

# 产 品 说 明 书

## Universal SYBR Green qPCR Supermix (抗体, 通用预混型)

产品货号: S2027S, S2027L

产品规格: 20  $\mu$ L $\times$ 100T, 20  $\mu$ L $\times$ 500T

产品内容:

组分	S2027S (20 $\mu$ L $\times$ 100T)	S2027L (20 $\mu$ L $\times$ 500T)
2 $\times$ Universal SYBR Green qPCR Supermix (抗体, 通用预混型)	1 mL	5 $\times$ 1 mL

注: Supermix 包含 SYBR Green I, dNTPs, 热启动 DNA 聚合酶,  $Mg^{2+}$ , ROX Reference Dye 等。

## 使用方法

### 一. 储备溶液的制备

1. 将2 $\times$ Universal SYBR Green qPCR Supermix取出恢复至室温并上下颠倒充分混匀, 同时准备实验所需的引物、模板、RNase-free水。
2. 在qPCR管中配制如下混合液:

组分	体积 ( $\mu$ L)	终浓度
2 $\times$ Universal SYBR Green qPCR Supermix (抗体, 通用预混型)	10	1 $\times$
Forward Primer (10 $\mu$ M)	0.8	0.4 $\mu$ M
Reverse Primer (10 $\mu$ M)	0.8	0.4 $\mu$ M
模板DNA	x	--
无菌超纯水	To 20	--

注: 使用前请充分混匀, 避免剧烈震荡产生过多气泡。反应体系中各成分的量可根据以下原则进行调整:

- 1) 引物浓度: 通常引物浓度为0.4  $\mu$ M可得到较好的扩增效果。当扩增效果较差时, 可以在终浓度0.1~1.0  $\mu$ M范围内调整引物浓度。
- 2) 模板浓度: cDNA作为模板时的添加量不要超过qPCR反应总体积的10%。cDNA原液建议5~10倍稀释, 最佳模板加入量以扩增得到的CT值在20~30个循环最好。
- 3) 体系配制: 反应体系配制时请于超净台内进行, 配制过程中请使用灭菌枪头和反应管, 条件容许的实验室推荐使用专用的移液枪和带滤芯的枪头。

### 3. 按下列条件进行qPCR反应

扩增程序 (两步法)

程序	温度/ $^{\circ}$ C	时间/s	循环
预变性	95	30	1
变性	95	10	40
退火/延伸 (荧光采集)	60	30	
溶解曲线分析 (仪器默认设置)			



扩增程序（三步法）

程序	温度/°C	时间/s	循环
预变性	95	30	1
变性	95	15	40
退火	60	15	
延伸（荧光采集）	72	45	
溶解曲线分析（仪器默认设置）			

注：高特异性可以选择两步法，高效率可以选择三步法。

- 1) 预变性时间：该预变性条件适合绝大多数扩增反应，如果遇到结构比较复杂的基因可适当的增加预变性的时间。
- 2) 退火和延伸时间：请根据引物和目的基因的长度进行调整。
- 3) 溶解曲线：仪器类型不同，溶解曲线采集程序不尽相同，使用仪器默认溶解曲线采集程序即可。

## 注意事项

1. Supermix 解冻后可能会出现些许白色沉淀，请提前恢复至室温并上下颠倒充分混匀，沉淀溶解后使用。
2. 配制 qPCR 混合液时吹打要轻，如果有气泡产生，需要短暂离心后使用。
3. 由于本品中含有荧光染料和参比染料，因此需要-20°C避光保存。
4. 本品灵敏度高，容易被空气中的气溶胶污染，因此反应配制时请于超净工作台内进行，配制过程中请使用灭菌枪头和反应管。
5. 为了保证产品的扩增效果，应尽量避免反复冻融，Supermix 解冻后短期可置于 2~8°C避光保存或者如果用量较小，推荐小份分装使用。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

