

产品说明书

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

产品货号: S2024S, S2024L

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

产品内容:

组分	S2024S (20 μ L \times 100T)	S2024L (20 μ L \times 500T)
2 \times Universal SYBR Green qPCR Supermix	1 mL	5 \times 1 mL

Supermix 包含 SYBR Green dye, dNTP, PCR buffer, 热启动 Taq 聚合酶, 参比染料。

储存条件

-20 $^{\circ}$ C 避光保存, 开封后可放置于 4 $^{\circ}$ C, 有效期见外包装。

产品介绍

SYBR Green I 是一种结合于所有 dsDNA 双螺旋小沟区域的具有绿色发光的染料。SYBR Green I 与 dsDNA 结合后荧光信号会增强 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。

S2024 Universal SYBR Green qPCR Supermix 为一款应用于 qPCR 基因表达分析的明星产品, 本产品试剂在稳定性、特异性、高 GC 含量序列扩增能力及抗抑制能力等方面都有了很大提升, 更关键的是优化了产品的使用步骤。

该试剂将特殊的参比染料预混进试剂盒, 适用于所有 qPCR 仪器, 无需在不同的仪器上调整 ROX 的浓度, 只需在配制反应体系中加入引物和模板即可进行扩增, 方便使用。

使用方法

- 取出 2 \times Universal SYBR Green qPCR Supermix, 引物, 模板, RNase-free 水, 恢复至室温, 轻轻涡旋, 充分混匀。
- 按如下体系制备反应混合液:

反应组分	20 μ L 反应	终浓度
2 \times Universal SYBR Green qPCR Supermix	10 μ L	1 \times

F, R 引物	适量	0.2-1 μ M
模板	适量	—
H ₂ O	补足至 20	

注 1. 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 反应体系总体积的 10%。

注 2. PCR 引物的终浓度通常为 0.6 μ M, 可以得到较好的结果, 但不同引物请自行摸索最佳使用浓度。

- 轻轻涡旋混匀反应混合液, 转移固定体积至 PCR 管。
- 您可以根据扩增模板的性质和仪器的功能, 选择以下两个程序之一进行实验。

A. 两步快速扩增法

这个程序适用于大多数引物 Tm 为 60 $^{\circ}$ C 的扩增, 熔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
延伸	60 $^{\circ}$ C	30 s	

B. 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。熔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 °C	120 s	1
变性	95 °C	5 s	40
退火	60 °C	15 s	
延伸	72 °C	30 s	

注：延伸时间请根据使用的实时定量 PCR 仪所需要的数据
采集最短时间限制自行调整。

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

注意事项

1. 退火温度：退火温度应根据引物 T_m 值设定，通常是 50 - 65°C 为佳。不过，引物 T_m 值（和扩增温度）应尽可能接近 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，加快 PCR 扩增速度。
2. 退火时间：退火时间应控制在 5-20s 范围内，退火时间延长可增强扩增效率，退火时间缩短可降低非特异性扩增，可根据实验情况进行适当调整。
3. 为保证产品效果，应尽量避免反复冻融。