

## 2 × SYBR Green Fast qPCR Master Mix

(本试剂盒仅供科研使用)

### 产品包装

使用前充分混匀, -20℃ 避光稳定储存 24 个月, 避免反复冻融。

| 产品编号     | 产品名称                                  | 产品规格  |
|----------|---------------------------------------|-------|
| YFXM0001 | 2× SYBR Green Fast qPCR Master Mix    | 5×1mL |
| YFXM0002 | 2× SYBR Green Fast qPCR Master Mix-LR | 5×1mL |
| YFXM0003 | 2× SYBR Green Fast qPCR Master Mix-HR | 5×1mL |

### 仪器适配

| 产品编号     | 仪器适配  |
|----------|---|
| YFXM0001 | Roche LightCycler ®480 (96 孔 or 384 孔) ; Roche Light Cycler96; MJ Research Chromo4, Opticon (II) ; Bio-Rad iCycler iQ, iQTM5; Bio-Rad CFX96; Bio-Rad C1000 Thermal Cycler; Takara TP800; Stratagene Mx3000/Mx3005P (安捷伦) ; 杭州博日 LineGene9600 FQD96A; 杭州朗基 Q1000; Corbett Rotor Gene 6000 (Qiagen) ; Corbett Rotor Gene G (Qiagen) ; Corbett Rotor Gene Q (Qiagen) ; 耶拿 QTOWER 系列; Thermo Pikoreal 96; MyGo Pro/MyGo mini (英国) ; 力康 Heal Force; 国测猪警; 上海宏石 SLAN-96S; 诺禾致源 q225; 厦门至善 ZEESAN; 天隆 Gentier 48R; 上海枫岭生物技术有限公司 FTC-3000P。 |
| YFXM0002 | ABI Prism7500 /7500 Fast ; ABI Q6; ABI ViiA™ 7; ABI Quant Studio 6/7 Flex; ABI Quant Studio 5; Corbett Rotor Gene 3000 (Qiagen) ; Eco, illumina; 天隆科技 TL988   |
| YFXM0003 | ABI Prism7000/7300/7700/7900HT ; ABI Step One /ABI Step One Plus ; Eppendorf; 博奥。   |

### 产品简介

本产品含有优化浓度的热启动 Taq DNA Polymerase、SYBR Green I、dNTPs、Mg<sup>2+</sup>、反应缓冲液和稳定剂等成分。

试剂中的热启动 Taq DNA Polymerase 高温加热前, 抗 Taq 单克隆抗体与 Taq 结合, 抑制 Taq 的聚合酶活性, 从而抑制在低温条件下出现的由引物和模板 DNA 非特异性杂交或引物二聚体引起的非特异性扩增。抗体在 PCR 反应的预变性步骤中已完全失活, 不会阻碍之后 Taq Polymerase 反应, 大大提高了 PCR 反应的灵敏度及特异性。

试剂中 SYBR Green I 优化了浓度, 渗入 DNA 双链后, 荧光信号增强, 而没有渗入 DNA 双链的 SYBR Green I 荧光信号不变, 从而保证荧光信号的增加与 PCR 产物的增加同步, 荧光可以在退火或延伸阶段测定。

本产品为 2 × 预混实时荧光定量快速 PCR 反应体系, 使用时只需加入模板、引物和水, 使其工作浓度为 1 ×, 即可进行反应。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点, 可最大限度地减少人为误差、节约 PCR 实验操作时间、降低污染几率。

## 注意事项

1. 使用前请上下颠倒轻轻混匀, 尽量避免起泡, 并经过短暂离心后使用。
2. 保存或者使用时应避免强光照射。
3. 避免反复冻融本产品。

## 使用方法

以下举例为常规 PCR 反应体系和反应条件, 实际操作中应根据模板、引物结构合目的片段的大小进行相应的改进和优化。

1、取出 2× SYBR Green Fast qPCR Master Mix、引物、模板、RNase-Free H<sub>2</sub>O, 恢复至室温, 轻轻涡旋, 充分混匀。

2、PCR 反应体系 (**具体操作中可根据实际反应体系, 按比例进行缩减**)

| 组分   | 20μL 体系  | 50μL 体系  |
|--|----------|----------|
| DNA 模板                                     | 1 μL     | 1 μL     |
| 正向引物 (10μM)                                | 0.5 μL   | 1 μL     |
| 反向引物 (10μM)                                | 0.5 μL   | 1 μL     |
| 2× SYBR Green Fast qPCR Master Mix/-LR/-HR | 10μL     | 25μL     |
| Nuclease-Free Water                        | 补足至 20μL | 补足至 50μL |

注: 模板推荐使用量如下:

- 1) 模板量: 10~100 ng 基因组 DNA, 或 1~10 ng cDNA 为参照, 因不同物种的模板中含有的目的基因拷贝数不同, 可对模板进行梯度稀释, 以确定最佳的模板使用量。
- 2) Two Step RT-PCR 反应的 cDNA (RT 反应液) 作为模板时, 添加量不超过 PCR 反应液总体积的 10%。
- 3) 引物: 通常引物浓度以 0.2 μM 可以得到较好结果, 可以终浓度 0.1~1.0 μM 作为设定范围的参考。
- 3) 扩增效率不高时, 可提高引物浓度; 发生非特异性扩增时, 可降低引物浓度。
- 4) 扩增片段长度为 80-200bp 时, qPCR 效果较为理想。

### 3、PCR 反应循环设置

#### PCR 循环 2 步法

|     |      |        |         |
|-----|------|--------|---------|
| 预变性 | 95°C | 2min   | } 40 循环 |
| 变性  | 95°C | 15S    |         |
| 延伸  | 60°C | 15-30S |         |

溶解曲线分析, 请参看仪器参数。

#### PCR 循环 3 步法

|     |      |       |         |
|-----|------|-------|---------|
| 预变性 | 95°C | 2min  | } 40 循环 |
| 变性  | 95°C | 15S   |         |
| 退火  | 60°C | 5-30S |         |
| 延伸  | 72°C | 30S   |         |

溶解曲线分析, 请参看仪器参数。

## 注

- 1) PCR 反应前模板的预变性一般设定为 95°C 2min, 复杂或高 GC 含量模板可适当延长预变性时间至 5min。
- 2) 本试剂中 Taq 在 15sec 中可扩增至少 350bp 的 DNA 片段, 超过 350bp 或者高 GC 含量的片段, 建议延伸时间增加至 60sec 或者采用三步法。
- 3) 本说明书中程序仅为常规反应系统, 实际反应中需根据模板、引物、目的片段不同而设定最佳反应条件。