

Universal 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
YFXM0008	Universal 2× SYBR Green Fast qPCR Master Mix	5×1mL

产品简介

本产品含有优化浓度的包含 SYBR Green dye, dNTP, PCR buffer, 热启动 Taq 聚合酶, 参比染料。

Universal 2× SYBR Green Fast qPCR Master Mix 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。

该试剂中含有特殊的 ROX 参比染料, 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。

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。
- 4、模板浓度: DNA 模板的添加量通常在 100ng 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%。
- 5、PCR 引物的终浓度通常为 0.6μM, 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。
- 6、退火温度: 退火温度应根据引物 T_m 值设定, 通常是 50 -65℃ 为佳。不过, 引物 T_m 值 (和扩增温度) 应尽可能接近 60℃ (但仍在 50 - 60℃ 范围内), 减少退火和变性温度之间的差距, 加快 PCR 扩增速度。
- 7、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。

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 Universal 2× SYBR Green Fast qPCR Master Mix、引物、模板、RNase-Free H₂O, 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	终浓度
DNA 模板	X μL	-
正向引物 (10μM)	适量	0.2-1μM
反向引物 (10μM)	适量	0.2-1μM
Universal 2× SYBR Green Fast qPCR Master Mix	10μL	1×
Nuclease-Free Water	补足至 20μL	

注: 模板推荐使用量如下:

1) 目的 DNA ≤ 10kb, 质粒或 λ DNA 的模板量为 1pg-10ng; 基因组 DNA 的模板量为 20ng-300ng; cDNA 的使用量为 1μL-2μL (不超过 PCR 反应体积的 1/10)。

2) 目的 DNA ≥ 10kb, 质粒或 λ DNA 的模板量为 100pg-20ng; 基因组 DNA 的模板量为 100ng-500ng; cDNA 的使用量为 1μL-2μL (不超过 PCR 反应体积的 1/10)。

3、PCR 反应循环设置

PCR 循环 2 步法

预变性 95°C 2min
 变性 95°C 5S
 延伸 60°C 30S } 40 循环
 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
 变性 95°C 5S
 退火 60°C 15S
 延伸 72°C 30S } 40 循环
 溶解曲线分析, 请参看仪器参数。

注:

1) 退火温度: 退火温度应根据引物 T_m 值设定, 通常 50-65°C 为佳。不过, 引物 T_m 值 (和扩增温度) 应尽可能直接接近 60°C (但仍在 50-65°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, 退火时间延长可增加扩增效率; 退火时间缩短可降低非特异性扩增, 可根据具体实验情况进行适当调整。