

## 2×qPCR SmArt Mix(SYBR Green) (No Rox/Low Rox/High Rox)

### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
2×qPCR SmArt Mix (SYBR Green) (No Rox)	DY20301	5×1mL
2×qPCR SmArt Mix (SYBR Green) (Low Rox)	DY20302	5×1mL
2×qPCR SmArt Mix (SYBR Green) (High Rox)	DY20303	5×1mL

### 产品描述

本品是采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 Real Time PCR 的 2×预混液。已经将 DNA 聚合酶、dNTP、特殊稳定剂、优化的反应缓冲液、BSA 和 SYBR Green I 等试剂预混，使用时只需加入模板、引物和水，可减少操作步骤，缩短加样时间，降低污染几率，具有灵敏度高、特异性强、稳定性好等特点。其核心组分是抗体修饰的热启动 TaqDNA 聚合酶，配合精心优化 Buffer 体系，有效抑制非特异性扩增，可对宽广浓度范围的模板进行准确定量，获得稳定可靠的 qPCR 结果，可在宽广的定量区域内得到良好的标准曲线，对目的基因进行准确定量检测，重复性好，可信度高。

### 保存方式

-20 °C 避光储存，有效期 18 个月。

避免反复冻融。可在 4°C 避光条件下稳定存放 6 个月。

### 注意事项

1. 请根据 qPCR 仪器技术指导决定购买的产品是否含 ROX 参比染料，用于消除信号本底以及校正孔与孔之间产生的荧光信号误差。
2. 本制品含 SYBR Green I，在强光下易分解，导致灵敏度降低，使用时请避免长时间强光照射。
3. 为提高扩增特异性，减少背景，建议在冰上配制 PCR 反应液，再放入仪器中扩增。
4. 使用前上下颠倒轻轻混匀 Mix，请勿涡旋振荡混匀，避免产生过多气泡。
5. 推荐的引物终浓度为 0.2μM，可在 0.1~1μM 范围内优化。

### 建议反应体系 (推荐冰上配制)

组分	体积 (μL)	体积 (μL)	终浓度
2×qPCR SmArt Mix(SYBR Green)*	25	10	1×
模板 DNA	2	0.8	/
Forward Primer (10 μM)	1	0.4	0.2μM
Reverse Primer (10 μM)	1	0.4	0.2μM
无菌超纯水	to 50	to 20	-

\*No Rox, Low Rox, High Rox 使用方法相同。

\*模板 DNA 加入体积不超过反应体系的 1/10

## qPCR 反应程序 (可根据机型适当调整)

两步法				三步法			
循环步骤	温度	时间	循环数	循环步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	30 sec	1	预变性	95°C	30 sec	1
变性	95°C	10 sec	} 40 Cycles	变性	95°C	10 sec	} 40 Cycles
退火 <sup>a</sup> /延伸 <sup>a</sup>	60°C	30 sec		延伸 <sup>a</sup>	55~65°C	10 sec	
熔解曲线 <sup>b</sup>	仪器默认设置		1	熔解曲线 <sup>b</sup>	仪器默认设置		1

a. 根据引物的 $T_m$ 值进行退火 (退火/延伸) 温度的设定。若扩增片段在200bp以内, 延伸 (退火/延伸) 时间可以设置为15sec。此外, 延伸时间的设置还需根据qPCR仪所需要的数据采集最短时间限制自行调整。

b. 不同仪器的熔解曲线采集程序有所差别, 一般可使用仪器默认的熔解曲线采集程序。

## 实验优化

若使用默认反应条件反应性能不佳时, 则需要进行反应条件的优化, 可以从引物浓度以及扩增程序两个方面进行:

1. 引物浓度调整: 当引物终浓度在 0.1~1.0 $\mu$ M 范围之间变化时, 引物浓度越低, 扩增特异性越高, 但扩增效率会有所下降。
2. 扩增程序优化: 需提高扩增特异性, 可使用两步法程序或提高退火温度。需提高扩增效率, 可使用三步法程序或延长延伸时间。

## 引物设计指南

1. 扩增产物长度建议控制在 80~200 bp, 引物长度为 18~25 bp。
2. 正向引物和反向引物的  $T_m$  值相差不超过 1°C为佳,  $T_m$  值控制在 58~62°C为佳。
3. 引物的 GC 含量控制在 40%~60%之间。引物 3'端最后一个碱基最好为 G 或者 C。
4. 引物 A、G、C、T 整体分布尽量要均匀, 避开 T/C 或者 A/G 的连续结构 (特别是 3'端)。
5. 避开引物内部或者两条引物之间的互补序列。
6. 使用 NCBI BLAST 功能检索确认引物的特异性。

## 适用机型

产品名称	产品编号	适用机型
2×qPCR SmArt Mix (SYBR Green) (No Rox)	DY20301	Bio-Rad CFX全系列
		Roche LightCycler™系列
		Eppendorf Mastercycler® ep realplex系列
		Qiagen Corbett Rotor-Gene®系列
		Takara Thermal Cycler Dice Analytikjena qTOWER 系列等
2×qPCR SmArt Mix (SYBR Green) (Low Rox)	DY20302	ABI 7500, 7500 Fast, ViiA™7, QuantStudio™系列 Stratagene MX3000P™, MX3005P™, MX4000™等
2×qPCR SmArt Mix (SYBR Green) (High Rox)	DY20303	ABI 7000, 7300, 7700, 7900HT, 7900HT Fast, StepOne™, StepOne Plus™等

本产品仅作科研用途