

2× Ultra SYBR Green qPCR Mix

【产品内容】

组分	E0105S	E0105L
2× Ultra SYBR Green qPCR Mix	5mL	25mL

【储存条件】

收到本产品后，请立即置于 -20°C 保存。从 -20°C 取出使用时，将冻存的 2× Ultra SYBR Green qPCR Mix 融解，然后轻轻颠倒混匀，待溶液完全均一后再行使用。如解冻后没有使用，须彻底混匀后重新冷冻。

【产品简介】

本品是应用嵌合荧光法进行 Real Time PCR 的专用试剂，可对目标 DNA 进行快速、特异性的定量检测。优化的预混液可缩短 Real-Time PCR 的反应时间，适用于标准或快速 PCR 仪。

2× Ultra SYBR Green qPCR Mix 采用化学修饰的 SsoTaq DNA 聚合酶，配合独特的 qPCR Buffer 体系可确保本产品进行高灵敏的快速 qPCR 反应，qPCR 反应时间可缩短至 1 小时以内。此外，Buffer 中添加了延伸因子和特异性增强因子，还使得本产品广泛适用于各类样本的检测，对具有复杂高级结构的模板、PCR 抑制剂残留较多的模板等也具有非常好的适用性。同时本产品还具有高扩增效率，高扩增特异性和宽广的可信范围等特点，在不影响 PCR 效果的前提下更快获得结果。

【适用机型】

本品不含用以校正孔与孔之间产生的荧光信号误差的 ROX Reference Dye，适用于以下荧光定量 PCR 仪：

Bio-Rad 品牌：

Bio-Rad CFX96™, CFX384™, iCycler iQ™, iQ™5 等；

Roche 品牌：

LightCycler 480 System；

Takara 品牌：

Thermal Cycler Dice Real Time System 系列；

Eppendorf 品牌：

Mastercycler® ep realplex, realplex 2 s；

其他不需要添加 ROX Reference Dye 的荧光定量 PCR 仪。

【注意事项】

- 本品属于化学修饰的热启动酶，95°C 预变性满 10 min 方能充分释放 DNA 聚合酶活性。
- 如果试剂没有混匀，其反应性能会有所下降。使用时请上下颠倒轻轻混匀，请不要使用振荡器进行混匀，尽量避免出现泡沫，并经瞬时离心后使用。

- 引物纯度对反应特异性影响很大，建议使用 PAGE 级别以上纯化的引物。
- 20 μL 反应体系中，cDNA 模板的使用量一般小于 100 ng，基因组 DNA 模板量一般小于 50 ng，逆转录产物作为模板时，使用量应不超过 PCR 体系终体积的 10%。

【操作方法】

1. 反应体系准备

1) 将 2× Ultra SYBR Green qPCR Mix，模板，引物和 Nuclease Free ddH2O 等试剂在室温下溶解，上下颠倒混匀后离心至管底。

2) 建议在冰上进行 Real-Time PCR 反应液的配制，反应体系如下所示。

Add Nuclease-Free ddH2O	To 20 μL
2× Ultra SYBR Green qPCR Mix	10 μL
Forward Primer (10 μM) ☆	0.5 μL
Reverse Primer (10 μM) ☆	0.5 μL
cDNA 模板 ☆☆	Optional

☆ 引物终浓度为 0.25 μM 可以在大多数体系中获得良好的扩增结果。扩增效率不高时，可增加 PCR 反应体系中的引物浓度；发生非特异扩增时，可适当减少 PCR 反应体系中的引物浓度。需要进一步优化引物浓度的，可以在 0.2-0.5 μM 范围内调整。

☆☆ 如模板类型为未稀释 cDNA 原液，使用体积不应超过 qPCR 反应总体积的 1/10。

3) 盖上反应管，轻柔混匀。可短暂离心，确保所有组分均在管底。

2. Real-Time PCR 反应程序设定

建议采用如下反应程序：

阶段	温度	时间	循环	荧光信号采集
预变性	95°C	10 min	1×	否
	95°C	5 Sec		否
PCR 反应	60°C	20 Sec	40×	是
		☆☆☆		
熔解曲线分析				

☆☆☆ 部分 qPCR 仪器的退火及延伸时间必须设定在 30 Sec 以上时，请以最小值设定即可。

3. 设置好反应程序后，将反应体系置于荧光定量 PCR 仪中，并立即运行反应程序。