

CAT#:GZ020801



2×SYBR qPCR Mix

使用手册 V2.1

北生京泽（启东）生物科技有限公司
江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路 500 号
网址：www.bsgeneze.com；电话：40001-59600

产品及特点

2×SYBR qPCR Mix 是专用于染料法实时荧光定量 PCR 的预混体系，包含热启动 Taq DNA Polymerase、PCR 扩增优化的稳定剂和增强剂、dNTPs、SYBR Green I 荧光染料、Mg²⁺等，操作简便，应用于基因组 DNA 靶序列和 RNA 反转录后 cDNA 靶序列的定量检测。该试剂盒确保 DNA 或 cDNA 模板的准确定量，适用于各种类型荧光定量 PCR 仪。它具有下列特点：

1. 高灵敏度：荧光染料 SYBR Green I 可以与所有的双链 DNA 结合，可以精确定量低拷贝模板；
2. 高特异性：独特的 PCR 缓冲体系与热启动酶的组合，有效抑制非特异性的 PCR 扩增。

成分规格

产品组成	GZ020801-1	GZ020801-5
2× SYBR qPCR Mix	1 ml	5×1 ml
50 × ROX Reference Dye I	40 μl	200 μl
50 × ROX Reference Dye II	40 μl	200 μl

保存条件

-20℃可保存 24 个月。

使用方法

（注意：以下举例为常规qPCR 反应体系和反应程序，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化）

1. 将DNA模板、引物、2×SYBR qPCR Mix、50 × ROX Reference Dye I/II溶解并置于冰上备用。
2. 根据以下表格配置反应体系，总体积为20 μl。

试剂	用量	终浓度
2 ×SYBR qPCR Mix	10 μl	1 ×

正义引物 (10 μ M)	0.5 μ l	0.25 μ M
反义引物 (10 μ M)	0.5 μ l	0.25 μ M
模板 DNA	x μ l	
50 $\times$ ROX Reference Dye I or II	0.4 μ l	1 $\times$
ddH ₂ O	Up to 20 μ l	

(注意: a.通常引物浓度以 0.25 μ M 可以得到较好结果, 可以终浓度 0.1-1.0 μ M 作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下, 可提高引物的浓度; 发生非特异性反应时, 可降低引物浓度, 由此优化反应体系; b.通常 DNA 模板的量以 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。)

需使用 ROX Reference Dye I 的机型: ABI Prism5700、7000、7300、7700、7900、7900HT、7900HT Fast、Step-One、Step-One Plus。

需使用 ROX Reference Dye II 的机型: ABI Prism 7500/7500Fast、ViiA7, Stratagene MX4000/MX3005P/MX3000P。

不需要使用 ROX 的机型: Bio-Rad CFX96, CFX384, iCycler iQ, iQ5, MyiQ, MiniOpticon, Opticon, Opticon 2, Chromo4; Cepheid SmartCycler; Eppendorf Mastercycler ep realplex, realplex 2 s; Illumina Eco qPCR; Qiagen/Corbett Rotor-Gene Q, Rotor-Gene 3000, Rotor-Gene 6000; Roche Applied Science LightCycler 480; Thermo Scientific PikoReal Cyclers。

3. qPCR反应程序, 两步法PCR:

过程	温度	时间
预变性	95 $^{\circ}$ C	3 min
35-40 cycles	变性	95 $^{\circ}$ C 15 sec
	退火/延伸	60 $^{\circ}$ C 10-30 sec
熔解曲线分析, 按仪器推荐程序		

(注意: a.建议采用两步法 PCR 反应程序, 若因使用 T_m 值较低的引物等原因, 得不到良好的实验结果时, 可尝试进行三步法 PCR 扩增, 退火温度请以 56 $^{\circ}$ C-64 $^{\circ}$ C的范围作为设定参考; b.融解曲线分析请以所使用的荧光定量 PCR 仪推荐的程序进行设定。)

4. 反应结束后确认荧光定量 PCR 的扩增曲线和融解曲线, 进行 PCR 定量时制作标准曲线等。

【引物设计原则】

1. PCR扩增产物长度：80~150 bp较为合适（可以至300 bp）。
2. 引物GC含量：40~60%（45~55%理想）。
3. T_m 值：60~65℃，正反引物的T_m值不能相差太大。
4. 引物序列：A、G、C、T 整体分布尽量均匀，不要有部分的GC rich或AT rich（特别是3'端）。避免T/C（Polypyrimidine）或A/G（Polypurine）的连续结构。
5. 3'末端序列：避免GC rich或AT rich。3'端碱基最好为G或C。尽量避免3'末端碱基为T。
6. 互补序列：避免引物二聚体的情况。两条引物间的3'末端避开有2个碱基以上的互补序列。

关联产品

产品编号	产品名称
GZ020701-1	2 × Probe qPCR Mix



关注京泽微信公众号
了解更多产品资讯