2X Universal SYBR Green Fast qPCR Mix

产品目录号：RK21203

ABclonal 爱博泰克

产品组分

组分名称	组分编号	规格-1	规格-2	规格-3
2X Universal SYBR Green Fast qPCR Mix *	RM21203	1 mL	5 × 1 mL	25 × 1 mL

*注：包含 ABclonal Genious Hot-Start Taq DNA 聚合酶、Mg^{2+}、dNTPs、SYBR® Green I、Universal ROX Dye 等。

产品说明

ABclonal 2X Universal SYBR Green Fast qPCR Mix 是采用 SYBR® Green I 嵌合荧光法进行 qPCR 反应的专用试剂。本产品为通用型试剂，使用 ABclonal 公司设计的特殊参比染料，具有更灵敏的分辨率，并且适用于市面上所有型号的荧光定量 PCR 仪器（包括 High ROX，Low ROX 以及 No ROX 需求的仪器）。本产品通过对 SYBR®/FAM 通道进行荧光信号定量检测，获得 PCR 过程中 DNA 扩增的真实数据。且本产品采用热启动 Taq DNA 聚合酶进行扩增，在保证扩增效果的同时极大地提高了产品的特异性。

ABclonal 2X Universal SYBR Green Fast qPCR Mix 为 2X 浓度的反应预混液，包含除了引物和模板外的所有 qPCR 所需成分。

保存条件

-20℃避光保存

适用机型

本产品为通用型 qPCR 试剂，适用于市面上所有型号的荧光定量 PCR 仪器（包括 High ROX、Low ROX 以及 No ROX 需求的仪器）。

实验准备

1. 相应 EP 管、PCR 管、移液器和枪头、冰盒或冰。
2. qPCR 引物和相应模板。
3. qPCR 专用平板及密封光学薄膜。

注意事项

1. 2X Universal SYBR Green Fast qPCR Mix 在使用前请充分融解，避免强光直射，并注意避光保存。
2. 2X Universal SYBR Green Fast qPCR Mix 中含有甘油，在使用前请轻轻混匀，避免产生气泡；取用之前应混匀并离心。使用后立即放回-20℃ 冰箱保存。
3. 本产品含有 DNA 聚合酶，使用时请置于冰上，短时间内多次使用可在 4℃ 暂存，应尽量避免反复冻融。

操作方法

实验准备

1. 扩增产物的长度建议选择在 70-200 bp 范围内。
2. 建议 20 μL 反应体系中加入 1 pg-50 ng 的 DNA 为模板，并设置 NTC（无模板对照）。
3. 为确保实验结果的准确性，建议每个样品和对照组重复 3 次。

实验方法

1. 配制 qPCR 反应体系

组分	加入量
2X Universal SYBR Green Fast qPCR Mix	10 μL
DNA 模板 *	Variable
正向引物（10 μM）**	0.4 μL
反向引物（10 μM）**	0.4 μL
dd H_2O	to 20 μL

*注：以 10-100 ng 基因组 DNA，或 1-10 ng cDNA 为模板参照量，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。另外，两步法 RT-qPCR 反应的 cDNA（RT 反应液）作为模板时，添加量不要超过 qPCR 反应液总体积的 10%。

**注：通常引物终浓度为 0.2 μM 时可以得到较好的结果，可以终浓度 0.1-1.0 μM 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，并优化反应体系。

2. 设置 qPCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95 ℃	3 min	1
循环反应	95 ℃	5 s	40-45
	60 ℃	30-34 s *	
熔解曲线		仪器默认设置	

*注：确保延伸后进行荧光信号采集。延伸时间根据 qPCR 仪所需数据采集时间自行调整：使用 StepOnePlus 请设定为 30 s；使用 7300 请设定为 31 s；使用 7500 请设定为 34 s。若无特殊说明，设定为 30 s 即可。

数据分析

1. 根据 Ct 值和样品投入量绘制标准曲线。标准曲线相关系数（R^2）＞0.98，标准曲线斜率介于-3 至-3.5 之间，PCR 扩增效率（E）一般介于 90-120%之间。
2. 重复管之间 Ct 值的 STD＜0.2，不同批次间同一实验的 Ct 值的 STD＜0.5（不同批次同一实验对比需保证阈值设置基本一致）。
3. 扩增产物的熔解曲线无明显非特异性扩增产物（杂峰）或引物二聚体杂峰（必要时请进行琼脂糖电泳确认），并且熔解曲线的 Tm 值一般在 80-95℃之间。
4. 有效 Ct 的确认：有效的扩增的 Ct 值应小于无模板对照曲线的 Ct 值，并且其熔解曲线无杂峰。

E-mail:cn.market@abclonal.com
TEL:400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.