



产品说明书

产品名称: SYBR Green qPCR Supermix

CAT: A1001 规格: 100T, 500T

产品内容

组分	100T	500T
2× SYBR Green qPCR Supermix	1 mL	5×1 mL

Supermix 包含 SYBR Green dye, dNTP, PCR buffer, 热启动 Taq 聚合酶, 参比染料。

储存条件

-20℃避光保存, 开封后可放置于 4℃, 有效期见外包装。

产品介绍

SYBR Green I 是一种结合于所有 dsDNA 双螺旋小沟区域的具有绿色激发光的染料。SYBR Green I 与 dsDNA 结合后荧光信号会增强 800-1000 倍, 是一种常用的 qPCR 荧光染料。具有高灵敏度, 信噪比高等优势, 可应用于基因表达差异分析, 基因芯片等。

SYBR Green qPCR Supermix 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。

使用方法

- 取出 2× SYBR Green qPCR Supermix, 引物, 模板, RNase-free 水, 恢复至室温, 轻轻涡旋, 充分混匀。
- 按如下体系制备反应混合液:

反应组分	20 μL 反应体	终浓度
2× SYBR Green qPCR Supermix	10 μL	1×
F, R 引物	适量	各 0.4 μM
模板	适量	—
H ₂ O	补足至 20 μL	

注 1. 模板浓度: DNA 模板的添加量通常在 100 ng 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。gDNA 做模板时, 通常 1-10 ng 即可。

cDNA 作为模板时的添加量不要超过 PCR 反应体系总体积的 10%。注 2. PCR 引物的终浓度通常为 0.4 μM, 可以得到较好的结果, 反应性能较差时, 可以在 0.2-1 μM 范围内调整引物浓度。

- 轻轻涡旋混匀反应混合液, 转移固定体积至 PCR 管。
- 您可以根据扩增模板的性质和仪器的功能, 选择以下两个程序之一进行实验。

A. 两步快速扩增法

这个程序适用于大多数引物 T_m 为 60℃的扩增, 熔解曲线遵循您所用仪器提供的标准流程执行。

程序	温度	时间	循环
酶激活	95 °C	5 min	1
变性	95 °C	5 s	45
延伸	60 °C	30 s	

B. 三步扩增法

这个程序适用于扩增温度比退火温度高的实验。例如, 如果扩增片段有相对较长的引物, 容易产生非特异性的扩增, 在



更高的温度下进行延伸可以降低非特异性扩增。熔解曲线遵循您所用仪器提供的标准流程执行。

程序	温度	时间	循环
酶激活	95 °C	5 min	1
变性	95 °C	5-10 s	40
退火	55-65 °C	15 s	
延伸	72 °C	25-30 s	

注：延伸时间请根据使用的实时定量 PCR 仪所需要的数据采集最短时间限制自行调整。

5 将待检样品，放入 PCR 仪，运行 PCR 程序。

6 分析实验数据。

1 退火温度：退火温度应根据引物 T_m 值设定，通常是 50-65°C 为佳。不过，引物 T_m 值（和扩增温度）应尽可能接近 60°C（但仍在 50 - 60°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。

3 为保证产品效果，应尽量避免反复冻融。