

SYBR Green qPCR Master Mix (2×)



产品货号：M10301

产品规格：20 μ L $\times$ 100 T, 20 μ L $\times$ 500 T

储运条件：-20 $^{\circ}$ C 避光保存；冰袋运输。

产品介绍

SYBR Green 是一种可紧密结合 dsDNA 双螺旋小沟区域的染料。当 SYBR Green 与 dsDNA 相结合时，荧光信号会显著增强，增幅可达 800 - 1000 倍，它是 qPCR 实验中常用的荧光染料。凭借高灵敏度和出色的信噪比等优势，在基因表达差异分析、基因芯片等领域得以广泛应用。

应用范围：定量 qPCR

产品特点

特异性强：灵敏度高，熔解曲线无双峰，拥有良好的特异性；

信噪比高：SYBR Green 荧光值高，荧光信号强。

产品组分

组分	20 μ L $\times$ 100 T	20 μ L $\times$ 500 T
A. 2 $\times$ SYBR Green Master Mix	1 mL	5 $\times$ 1 mL
B. 10 $\times$ ROX reference dye	0.5 mL	1 mL

注意事项

- 使用前请将产品瞬时离心至管底，务必充分混匀，避免剧烈震荡产生过多气泡。
- 退火温度根据引物 T_m 值设定，50 - 60 $^{\circ}$ C 为宜。引物 T_m 值及扩增温度应接近 60 $^{\circ}$ C（且 50 - 60 $^{\circ}$ C），这样可缩小退火与变性温度的差距，减少升温耗时，提高扩增效率。

3. 为精确测定 Ct 值，部分机型需添加 ROX，其推荐使用浓度见表1。ROX 会干扰熔解曲线分析，为避免杂峰干扰，在应用软件的“Passive Reference Dye”中，不要勾选检测 ROX 荧光值选项，再进行数据收集与分析。
4. 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
5. 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。

表 1: PCR 仪与推荐 ROX 终浓度（仅供参考）

PCR 仪	ROX 终浓度	使用量（20 μ L 体系）
ABI: 7500, 7500 Fast, ViiA 7; Stratagene: MX4000P, MX3000P, MX3005P	Low ROX 0.05~0.1×	1 : 10 稀释 10× ROX, 添加 1~2 μ L 1× ROX
ABI:7000,7300,7700,7900,7900HT,7900HTFast,StepOne,StepOne plus	High ROX 1×	添加 2 μ L 10× ROX
BioRad: iCycler,MyiQ,MiQ 2,iQ 5,CFX-96,CFX-384,MJ Opticon, Option2, Chromo4; MiniOpticon Qiagen: Roto-Gene Q, Roto-Gene3000,Roto-Gene 6000; Eppendorf:Mastercycler realplex;Illumina:Eco RealTime PCR System;	No ROX	None

操作步骤

1. 在 PCR 管中制备反应液。

反应组分	20 μ L 反应体系	终浓度
2× SYBR Green Master Mix	10 μ L	1 ×
F, R 引物	适量	0.2~1 μ M
模板	适量	——
10 × ROX	适量	见表 1
H ₂ O	补足至 20 μ L	N/A

注：(1) DNA 模板添加量通常在 100 ng 以下，可根据实际样本情况进行调整。cDNA 为模

板时添加量不超过 PCR 反应体系总体积的 10%；

(2) 引物终浓度可根据情况在 0.2~1 μM 间调整，通常为 0.6 μM 。

2. 选择适合扩增模板性质和仪器功能的程序，将反应液放入仪器，运行程序扩增。

(1) 两步法

程序	温度	时间	循环
预变性	95 °C	120 s	1
变性	95 °C	5 s	40
退火	60 °C	30 s	

注：(1) 两步法适用于大多数引物 T_m 为 60 °C 的扩增；

(2) 三步法

程序	温度	时间	循环
预变性	95 °C	120 s	1
变性	95 °C	5 s	40
退火	60 °C	15 s	
延伸	72 °C	30 s	

注：(1) 三步法适用于退火温度低于扩增温度的扩增。如扩增片段引物较长，易引发非特异性扩增，可提高延伸温度来降低这种情况。

3. 实验数据整理与分析。

FAQ

1. 问：扩增曲线不光滑。

答：通常是因信号太弱，系统矫正导致，可提高模板浓度后重新实验。

2. 问：个别扩增曲线骤降。

答：反应管内可能有气泡，扩增前仔细检查反应管有无气泡残留。

3. 问：CT 值出现太晚。

答：1) 扩增效率低：可尝试三步法程序，或重新设计引物；

2) 模板浓度低：减少稀释度重新实验；

3) 模板降解：重新制备模板，再进行实验。

4. 问：熔解曲线多峰。

答：1) 引物设计不优：重新设计引物；

2) 引物浓度太高：适当降低引物浓度；

3) cDNA 模板带有基因组污染：重新制备 cDNA 模板。

相关联产品

产品货号	产品名称
M10101	All-in-One RT Mix with DNase