

Universal Premixed SYBR Green qPCR Master Mix (Chemical)

一管化预混 qPCR 试剂，可视化色素，荧光信号增强 800-1000 倍，高适配

产品货号： M10302

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

产品简介：

Universal Premixed SYBR Green qPCR Master Mix(Chemical)是一款实时荧光定量PCR (qPCR) 专用的预混试剂。本产品由SYBR Green dye、dNTP、PCR buffer、热启动Taq聚合酶及ROX参比染料集成，使用时仅需添加引物和模板即可启动反应，无需复杂试剂配制。核心基于SYBR Green可特异性结合双链DNA (dsDNA) 双螺旋小沟区域，结合后荧光信号增强 800-1000 倍，通过实时监测荧光强度实现靶基因的定量分析。相较于传统PCR试剂，本产品无需单独配制酶、缓冲液等组分，仅需加入引物和模板即可反应，大幅简化操作并降低污染风险；本产品试剂稳定性、扩增特异性、高GC含量序列扩增能力及抗抑制能力上均有优化，可高效应用于基因表达差异分析、基因芯片验证、病原体定量检测等多种qPCR场景。

SYBR Green染料因操作简便、成本可控，是应用最广泛的qPCR技术之一，但传统试剂常面临仪器兼容性差、非特异性扩增干扰、高GC序列扩增困难等问题。本产品为特殊ROX参比染料，搭配热启动Taq聚合酶降低非特异性扩增，同时优化缓冲体系提升复杂序列扩增效率，为科研人员提供稳定、高效、通用的qPCR解决方案。在具体应用场景中，其展现出不可替代的作用：在基因表达研究中，可精准量化不同细胞或组织样本中靶基因的转录水平，为信号通路调控、疾病机制研究提供量化依据；在病原体检测领域，能快速定量样本中病毒、细菌等病原核酸载量，助力传染性疾病的早期诊断与疗效评估；在基因组研究中，可高效分析基因拷贝数变异，为遗传病筛查提供技术支持；在药物研发中，可监测药物作用下靶基因的表达变化，为药物靶点验证与药效评价提供数据支撑。

注：效能等同TAKARA TB Green® Premix Ex Taq™ II FAST qPCR；

注：本文中TB Green®为TAKARA的商标及注册商标；

注：本文中Ex Taq™为TAKARA的商标及注册商标。

应用范围： 实时定量 qPCR、基因表达差异分析、基因芯片验证、病原体定量检测、靶基因的表达变化等

产品特点：

- **极简操作：** 一管化 Mix 使用方便，仅需添加引物和模板，降低操作污染风险；
- **仪器通用：** 预混通用参比染料，无需额外调整 ROX 染料，避免反复调试参数；
- **灵敏度高：** SYBR Green 与 dsDNA 结合后，荧光信号能增强 800-1000 倍，荧光信号强；
- **低抑制扩增全：** 针高 GC 含量序列顺利扩增，抗抑制能力较强，配热启动 Taq 聚合酶，减少非特异性扩增；
- **可视化色素：** 预混可视化色素，追踪移液过程，减少移液错误。

产品组分：

组分	20 μ L $\times$ 100 T	20 μ L $\times$ 500 T
A. 2 $\times$ Universal SYBR Green qPCR Master Mix	1 mL	5 $\times$ 1 mL
B. RNase-Free Water	1 $\times$ 1.7 mL	3 $\times$ 1.7 mL

注：500 T 试剂盒以 20 μ L 体系进行反应的次数。



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 °C为宜。引物 T_m 值及扩增温度应接近60 °C (且50-60 °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。
- 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请遵循您所在常规实验室安全规定。

使用说明:

一、实验前准备

1. 试剂准备:

- 将试剂盒中的组分A (2× Universal SYBR Green qPCR Master Mix)、引物、模板、无酶水从储存条件 (-20 °C/4 °C) 取出, 放置于冰上或冰板上。

2. 仪器准备:

- qPCR仪。

3. 对照组设置:

- 阴性对照 (无模板): 无扩增信号, 排除污染 (选做)。
- 阳性对照 (已知阳性模板): 正常扩增, 验证反应体系有效性 (选做)。
- 内参基因对照。
- 实验组。

二、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× Universal SYBR Green qPCR Master Mix	10 μ L	1×
F, R 引物	适量	0.2-1 μ M
模板	适量	——
RNase-Free Water	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 μ M间调整, 通常为 0.6 μ M。

2. 混匀离心: 轻柔混匀后瞬时离心, 使液体集中在管底。

注: 上机之前检查管内是否有气泡、管壁上是否有残存的液体。

3. 选择适合扩增模板性质和仪器功能的程序:

(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: 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: 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。



况。

三、结果判读：

●通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目标基因的相对表达量

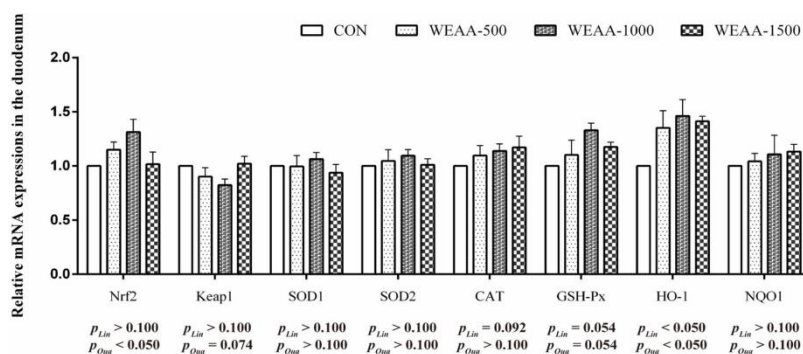


图 1.mRNA 表达水平检测

结果判读：WEAA 对十二指肠内的抗氧化基因相关的 mRNA 表达水平检测。结果表明随着 WEAA 补充量增加，Nrf2 的表达水平呈现显著的二次方上升效应 ($p < 0.05$)；Keap1 的表达水平呈现明显的二次方下降趋势 ($p < 0.10$)；CAT 的表达水平呈线性上升趋势 ($p < 0.10$)，而 GSH-Px 基因的表达则同时呈现线性上升与二次方上升趋势 ($p < 0.10$)。此外，随着 WEAA 添加量的增加，HO-1 的表达水平呈现显著的线性或二次方上升趋势 ($p < 0.05$)。

注:图片引自参考文献《Effects of diet supplemented with water extracts of *Artemisia annua* L. on small intestinal immune and antioxidative indexes in lambs》(DOI: 10.3389/fvets.2025.1545729)

常见疑问与解答：

● 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。

● 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。

● 问：Ct值出现太晚。

答：a.扩增效率低：可尝试三步法程序，或重新设计引物；b.模板浓度低：减少稀释度重新实验；c.模板降解：重新制备模板，再进行实验。

● 问：熔解曲线多峰。

答：a.引物设计不优：重新设计引物；b.引物浓度太高：适当降低引物浓度；c.cDNA 模板带有基因组污染：重新制备 cDNA 模板。

● 问：M10201 与 M10302，在应用上有什么区别。

答：M10201：需要HRM分析（基因突变检测（SNPs、插入缺失）、基因分型（如等位基因区分）、甲基化分析、非特异性扩增鉴别）、高灵敏度、高精度定量需求（如稀有mRNA表达、微量病原体）。

M10302：常规 qPCR 定量，无需高分辨率熔解曲线（HRM）分析。

