

2 × Q3 SYBR qPCR Master Mix (Universal)

#22204

Version 9.1.2

■ 产品简介

本产品是使用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 qPCR 反应的专用预混液。核心组分 PureTaq DNA Polymerase 为一种新型的抗体法修饰的热启动 DNA 聚合酶，具有特异性强、检测灵敏度高等诸多优点，配以针对 qPCR 优化的最适反应缓冲液，非常适合于进行高特异性、高灵敏度的 qPCR 反应。本产品是一种含有 qPCR 反应最适浓度 SYBR Green I 的 2 × 预混试剂，可以在宽广的定量区域内得到良好的标准曲线，靶基因定量准确、重复性好、可信度高。本产品中含有特殊的 ROX Passive Reference Dye，适用于所有型号的 qPCR 仪器，无需在不同的机型上调整 ROX 的浓度，只需在配制反应体系时加入引物和模板即可进行扩增，操作简便。

■ 产品组分

组分	22204 (500 rxns)
○ 2 × Q3 SYBR qPCR Master Mix (Universal)	5 × 1 mL

- 组分中已包含 dNTP、Mg²⁺、PureTaq DNA Polymerase、SYBR Green I、ROX Passive Reference Dye 等。

■ 保存条件

-20℃ 避光保存，≤ 0℃ 运输；

■ 实验流程

1. 在 qPCR 管中配制如下反应体系

组分	体积
2 x Q3 SYBR qPCR Master Mix (Universal)	10 μL
Primer F (10 μM)	0.4 μL
Primer R (10 μM)	0.4 μL
Template DNA/cDNA	x μL
ddH ₂ O	Up to 20 μL

反应体系中各成分的量可根据以下原则自行调整：

- 一般来说反应体系中引物终浓度为 0.2 μM 即可得到较好的扩增效果。当反应性能比较差时，可以在终浓度范围 0.1~1.0 μM 内调整引物浓度。
- qPCR 灵敏度极高，建立反应体系时加入模板量的准确程度对最终定量结果会有很大的影响。推荐将模板稀释后加入反应体系中，这样可以有效提高实验的准确度。
- 如模板类型为未稀释 cDNA 原液，使用体积不应超过 qPCR 反应总体积的 1/10。

2. 按下列反应程序进行 qPCR 反应

Stage	程序	温度	时间	循环
Stage 1	预变性 ^a	95°C	30 sec	
Stage 2	循环反应 ^b	95°C 60°C 	10 sec 30 sec	} 40 cycles
Stage 3	熔解曲线 ^c	仪器默认程序		

a. 该预变性条件适合绝大多数扩增反应，如模板结构复杂，可将预变性时间延长至 3 min，以提高预变性效果。

b. 300 bp 以内的扩增子，延伸时间设置为 30 sec 即可；超过 300 bp 的扩增子，推荐延长延伸时间至 60 sec。

c. 仪器类型不同，熔解曲线采集程序不尽相同，推荐使用仪器默认熔解曲线采集程序即可。

注意事项

1. 本产品中 2 × Q3 SYBR qPCR Master Mix 解冻后可能会出现些许白色沉淀，为正常现象。室温放置片刻并上下颠倒即可溶解，待沉淀完全溶解后，充分混匀备用。
2. 当模板浓度未知时，可以先从最大加入体积开始测试。
3. 引物设计时推荐目标 PCR 产物长度为 80~150 bp。长时间未用的引物应先通过 PAGE 电泳检测完整性，以排除其降解的可能。
4. 当无模板阴性对照出现明显扩增时，应考虑反应体系污染及配置环境中气溶胶污染，可更换新的 Master Mix、水、引物重复实验；反应体系在超净工作台内配置，减少气溶胶污染。
5. 当熔解曲线出现多峰时，可考虑 cDNA 模板带有基因组污染，非特异性扩增，引物二聚体等可能性。
6. 如需提高扩增特异性，可适当提高退火温度（每次提高 3°C）。
7. 如需提高扩增效率，可将两步法程序的延伸时间延长至 60 sec 或使用三步法程序。两步法扩增程序一般将信号采集设置在 60°C 退火延伸阶段；三步法扩增程序应将信号采集设置在 72°C 延伸阶段。程序设置如下：



8. 进行转录水平的基因表达量检测时，推荐搭配 ToloScript RT EasyMix for qPCR (with 2-step gDNA Erase-Out, #22106) 逆转录试剂盒。该逆转录试剂盒可以彻底去除基因组 DNA，且内含新一代 RTase 和最适缓冲体系，大大提高了 cDNA 的合成效率。或使用本公司的一步法逆转录试剂盒 ToloScript All-in-one RT EasyMix for qPCR(#22107)，进行快速高效的基因表达分析。