

2× qPCR Green Fast Mixture

2× 预混实时荧光定量快速 PCR 反应体系

【产品简介】

本产品是采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行实时荧光定量 PCR 的专用 2× 浓度预混液。产品含有优化浓度的 HotStart Taq DNA Polymerase、SYBR Green I、dNTPs、Mg²⁺、反应缓冲液和稳定剂等成分。主要用于基因组 DNA 靶序列和 RNA 反转录后 cDNA 靶序列的检测。HotStart Taq DNA Polymerase 高温加热前，抗 Taq 单克隆抗体与 Taq 酶结合，抑制 Taq 酶的聚合酶活性，从而抑制在低温条件下出现的由引物和模板 DNA 非特异性杂交或引物二聚体引起的非特异性扩增。抗 Taq 单克隆抗体在 PCR 反应第一循环的变性步骤中已完全失活，不会阻碍之后的 Taq Polymerase 反应，大大提高了 PCR 反应的灵敏度及特异性。优化浓度的 SYBR Green I 荧光染料，特异性地掺入 DNA 双链后，荧光信号增强，而不掺入链中 SYBR Green I 染料分子荧光信号不变，从而保证荧光信号的增加与 PCR 产物的增加完全同步，荧光可以在退火或延伸阶段测定。

本产品为 2× 预混荧光定量 PCR 反应体系，使用时只需加入模板、引物和水，使其工作浓度为 1×，即可进行反应。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点，可最大限度地减少人为误差、节约 PCR 实验操作时间、降低污染几率。

【产品编号】

产品编号	产品名称
C06-01007	2× qPCR Green Fast Mixture
C06-01008	2× qPCR Green Fast Mixture (with ROX)
C06-01009	2× qPCR Green Fast Mixture (with ROX II)

注：不同仪器所需 ROX Reference Dye 不同，请根据实际需求选择适合的试剂，各试剂适用机型请参考：

C06-01007: Thermal Cycler Dice Real Time System, LightCycler, Smart Cycler System, Corbett Rotor-gene6000, Mastercycler@eprealplex, LightCycler480, CFX96TM, CFX384TM 荧光定量 PCR 仪等。

C06-01008: ABI Prism7000/7300/7700/7900HT 和 ABI Step One /ABI Step One Plus 荧光定量 PCR 仪。

C06-01009: ABI Prism7500/7500 Fast 荧光定量 PCR 仪, MJ Research Chromo4, Opticon (II), Corbett Rotor Gene 3000, Agilent Technologies Mx3000P 荧光定量 PCR 仪。

【规格和组分】

	1ml	5ml	10ml
2× qPCR Green Fast Mixture	1.1ml×1	1.1ml×5	1.1ml×10
ROX Reference Dye/ROX Reference Dye II	44ul	220ul	220ul×2

【保存】 -20℃ 恒温避光保存一年，避免反复冻融。如经常使用，可置于 4℃ 保存至少三个月。

【注意事项】

1. 使用前请上下颠倒轻轻混匀，尽量避免起泡，并经短暂离心后使用。
2. 尽可能减少 qPCR Green Fast Mixture 在光下的曝露时间，长时间的曝光可导致荧光信号减弱。
3. 反应液的配制、分装请一定使用无污染的气枪头、Microtube 等，尽量避免交叉污染。
4. 本品不能用于杂交探针法。

【使用方法】

用户需自备的试剂：cDNA 模板或 DNA 模板、引物

请按照不同品牌荧光定量 PCR 仪的使用说明书要求进行试验操作。

操作示例：分别以 20ul 和 50ul PCR 反应体系为例

1. PCR 反应体系的建立：

试剂	使用量	使用量	终浓度
DNA 模板	0.4ul	1ul	[1]
正向引物 (10uM)	0.4ul	1ul	0.2uM [2]
反向引物 (10uM)	0.4ul	1ul	0.2uM [2]
2X qPCR Green Fast Mixture	10ul	25ul	1×
ROX Reference Dye/ROX Reference Dye II [3]	0.4ul	1ul	1×
RNase-free ddH ₂ O	补足至 20ul	补足至 50ul	[4]

1. 模板量：10~100 ng 基因组 DNA，或 1~10 ng cDNA 为参照，因不同物种的模板中含有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，two Step RT-PCR 反应的 cDNA (RT 反应液) 作为模板时的添加量不要超过 PCR 反应液总体积的 10%。
2. 引物：通常引物浓度以 0.2uM 可以得到较好结果，可以终浓度 0.1~1.0uM 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，由此优化反应体系，为了获得理想的去 PCR 的效果，扩增片段的长度建议为 80~200bp。
3. 不同仪器所需 ROX Reference Dye 不同，或需要添加或不需要添加，请根据仪器说明进行操作。
4. 按照各仪器推荐体系进行反应液配制。

2. PCR 反应条件的设置

本制品中使用的 HotStart Taq DNA Polymerase 是利用抗 Taq 抗体封闭的 Hot Start DNA 聚合酶，如果在 PCR 反应前进行模板的预变性，通常设定为 95℃、2min，复杂或高 GC 模板适当延长至 5min。该 DNA 聚合酶在 15 sec 内可完成至少 300bp 的扩增，可以满足绝大多数的 qPCR 实验；对于超过 350bp 或者高 GC 含量的扩增子，建议增加延伸时间至 60sec 或者采用三步法以提高扩增效率。

两步法 PCR 扩增标准程序

95℃	2min	} 40Cycles
95℃	15sec	
60℃	15~30sec	

溶解曲线 (仪器自动设置)

三步法 PCR 扩增标准程序

95℃	2min	} 40Cycles
95℃	15sec	
60℃	15~30sec	
72℃	30sec	

溶解曲线 (仪器自动设置)

注：以上举例为常规 qPCR 反应系统，仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据模板、引物、目的片段的特点设定最佳反应条件，并根据此比例放大或缩小反应体系

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任，仅限于此产品的价值本身。