

Magen Universal SYBR qPCR Mix

简介

Magen Universal SYBR qPCR Mix 是 SYBR Green I 嵌合染料法专用 qPCR 试剂，为 2×预混液，包含热启动 Taq 酶、Buffer、以及除引物和 DNA 样品以外的所有 qPCR 组分。本产品核心组分是经过升级改造的热启动 Taq DNA 聚合酶，特异性更好。配合精心优化的 Buffer 体系，可对宽广浓度范围的模板进行准确定量，获得稳定可靠的 qPCR 结果。本产品中含有通用校正染料，与绝大多数荧光定量 PCR 仪兼容，包括需要 ROX 校正的仪器，实验操作过程中不需要额外添加校正染料。

产品组成

产品编号	MD80301
反应次数(20 μl)	10 × 100 次
Magen Universal SYBR qPCR Mix	10 × 1ml

保存条件

Magen Universal SYBR qPCR Mix 冰盒运输，收到产品后请立即于 -20°C 避光保存，有效期 18 个月。融解后可在 4°C 避光条件下稳定存放一个月，尽量避免反复冻融。

注意事项

- 因反应液含预混有染料，其保存或反应体系配制过程应避免强光照射。使用前上下颠倒轻轻混匀预混液，请勿涡旋振荡混匀，避免产生过多气泡。
- 预混合液含有 ROX 校正染料，适用于所有机型，无需额外添加染料。
- 扩增产物长度建议控制在 80~200bp，引物长度为 18~25 bp。
- 正向引物和反向引物的 T_m 值相差不超过 1°C 为佳，T_m 值控制在 58~62°C 为佳。
- 引物的 GC 含量控制在 40%~60% 之间，引物 A、G、C、T 整体分布尽量要均匀，避开 T/C 或者 A/G 的连续结构（特别是 3' 端）；引物 3' 端最后一个碱基最好为 G 或者 C；
- 避开引物内部或者两条引物之间的互补序列；

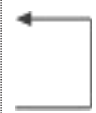
使用方法

1. 建议 qPCR 反应体系


试剂	使用量	终浓度
Magen Universal SYBR qPCR Mix	10 μl	1×
正向引物 (10 μM) ^a	0.4 μl	0.2 μM
反向引物 (10 μM) ^a	0.4 μl	0.2 μM
模板 DNA ^b	X μl	10~200 ng
ddH ₂ O	To 20 μl	

- 引物推荐终浓度为 0.2 μM，效果不佳时可以在 0.1~1 μM 浓度范围内进行调整，引物浓度越低，扩增特异性越高，但扩增效率会有所下降。
- 推荐模板加样量为 1~2 μl，如模板类型为未稀释 cDNA 原液，模板添加量不应超过总反应体系的 10%。不同种类 DNA 模板中含有的靶基因拷贝数目不同，必要时可进行梯度稀释，以确定最佳的 DNA 模板添加量。

2. qPCR 反应程序（三步法，可根据机型适当调整）

步骤	温度	时间	循环
预变性	95°C	30-60 s	 40cycles
变性	95°C	10 s	
退火 ^c	55-65°C	10 s	
延伸	72°C	30 s	
溶解曲线 ^d 使用仪器默认程序			

3. qPCR 反应程序（两步法，可根据机型适当调整）

步骤	温度	时间	循环
预变性	95°C	30-60s	 40cycles
变性	95°C	10 s	
退火延伸 ^c	60°C	30 s	
溶解曲线 ^d 使用仪器默认程序			

- 根据引物的 T_m 值进行退火（退火&延伸）温度的设定；若扩增片段在 200 bp 以内，延伸（退火&延伸）时间可以设置为 15 秒；此外 延伸时间的设置还需根据您使用的 qPCR 仪所需要的数据采集最短时间限制自行调整；
- 不同 qPCR 仪的溶解曲线采集程序有差别，一般可使用仪器默认的溶解曲线采集程序。
- 扩增程序优化：需提高扩增特异性，可使用两步法程序或提高退火温度；需提高扩增效率，可使用三步法程序或延长延伸时间。