



2×RealStar Universal SYBR qPCR Mix

2×RealStar 通用染料法 qPCR 预混液

版本号: V250101

货号: A308
保存: -20°C避光
运输: 低温

货号	规格
A308-01	1.1 ml
A308-05	1.1 ml×5
A308-10	1.1 ml×10

【产品概述】

本产品为采用 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，体系中添加了通用 ROX，无需在不同的仪器上调整 ROX 浓度。产品中核心组分为 GenStar Fast HSTaq DNA Polymerase，高温加热前，抗 *Taq* 单克隆抗体与 *Taq* 结合，抑制 *Taq* 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。抗体在 PCR 反应的预变性步骤中已完全失活，不会阻碍之后 *Taq* 酶聚合反应，大大提高了 PCR 反应的灵敏度及特异性。

本产品中含有通用 ROX，适用于所有 qPCR 仪器，无需在不同的仪器上调整 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。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、降低污染机率。

【产品组分】

组分货号	组分名称	A308-01	A308-05	A308-10
ZA308-101	2×RealStar Universal SYBR qPCR Mix	1.1 ml	1.1 ml×5	1.1 ml×10

【保存条件】

-20°C避光保存，保质期 24 个月，避免反复冻融。如果经常使用，可置于 4°C保存至少 3 个月。

【注意事项】

- 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。
- 尽可能减少 2×RealStar Universal SYBR qPCR Mix 在光下的曝露时间，长时间的曝光可导致荧光信号减弱。
- 反应液的配制、分装请一定使用无污染的枪头、Microtube 等，尽量避免交叉污染。
- 本品不能用于杂交探针法。

【使用方法】

用户需自备的试剂：cDNA 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实验操作。

操作示例：分别以 20 μl 和 50 μl PCR 反应体系为例：

- PCR 反应体系的建立：

组分	20 μl 体系	50 μl 体系
DNA 模板 ^a	1 μl	1 μl
正向引物 (10 μM) ^b	0.5 μl	1 μl
反向引物 (10 μM) ^b	0.5 μl	1 μl
2×RealStar Universal SYBR qPCR Mix	10 μl	25 μl
Sterile Water	补足至 20 μl	补足至 50 μl

^a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的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%。

^b引物：通常引物浓度以 0.2 μM 可以得到较好结果，可以终浓度 0.1-1.0 μM 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 qPCR 的效果，扩增片段的长度建议为 80-200 bp。



2. PCR 反应条件的设置:

两步法 PCR 扩增程序

流程	温度	时间 (参考范围)	循环数
预变性	95°C	2 min (30 s-5 min) ^c	
变性	95°C	10 s (3 s-15 s) ^d	40
退火/延伸	60°C ^e	30 s (10 s-40 s) ^f	

溶解曲线 (仪器自动设置)

^c 预变性时间: 标准程序选择 2 min, 适合大多数模板; 快速程序最短可选择 30 s; 复杂或高 GC 模板, 可适当延长预变性时间至 5 min。

^d 变性时间: 标准程序 10 s; 快速程序最短可选择 3 s。

^e 退火/延伸温度: 对于复杂模板、高 GC 含量的扩增子, 建议增加退火和延伸温度至 68°C。

^f 退火/延伸时间: 标准程序 30 s, 可以满足绝大多数的 qPCR 实验; 对 200 bp 以内的扩增子, 延伸时间最短可设置为 10 s; 对于超过 350 bp 或者高 GC 含量的扩增子, 建议增加延伸时间至 40 s 或者采用三步法以提高扩增效率。

三步法 PCR 扩增程序

流程	温度	时间	循环数
预变性	95°C	2 min	
变性	95°C	15 s	40
退火	60°C	15-30 s	
延伸	72°C	30 s	

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, 并根据比例放大或缩小反应体系。

3. 在相应的 real time PCR 仪器上完成实验, 并分析结果。

【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。