

HS-Taq SYBR Green qPCR Mix 说明书

【产品简介】

HS-Taq SYBR Green qPCR Mix 是 SYBR Green I 嵌合染料法专用 qPCR 试剂，为 2×预混液，包含除引物和 DNA 样品以外的所有 qPCR 组分，可减少操作步骤，缩短加样时间，降低污染几率。其核心组分是经抗体法修饰的热启动 Taq DNA 聚合酶，配合精心优化的 Buffer 体系，有效抑制非特异性扩增，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。预混液中含有独特校正染料，与一系列 qPCR 设备兼容，包括需要 ROX 校正的仪器，实验操作过程中不需要额外添加染料来校正仪器。

【产品组成】

货号	产品名称	规格	数量
M103S	HS-Taq SYBR Green qPCR Mix	1mL	5 管

【使用方法】

1. 注意事项

- ① 因 Mix 中预混有染料，其保存或反应体系配制过程应避免强光照射；
- ② 使用前上下颠倒轻轻混匀 Mix，请勿涡旋振荡混匀，避免产生过多气泡；
- ③ Mix 中含有 Universal 校正染料，适用于所有机型，无需额外添加染料。

2. 推荐 qPCR 反应体系

组分	添加量	终浓度
HS-Taq SYBR Green qPCR Mix	10μL	1×
10μM 正向引物 ^a	0.4μL	0.2μM
10μM 反向引物 ^a	0.4μL	0.2μM
Template	按需求添加 ^b	
ddH ₂ O	加水至20μL	

a: 通常推荐的引物终浓度为 0.2 μM，反应效果不佳时可在 0.1~1 μM 范围内进行调整；

b: 推荐模板使用量为 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。

3. PCR 反应程序

建议首先采用两步法 PCR 反应程序，如果得不到良好的实验结果时再优化反应条件；如果引物 T_m 值较低，导致两步法扩增效率较差，可采用三步法进行 PCR 扩增。

两步法:

反应程序				
步骤		温度	时间	循环
1	预变性 ^a	95°C	30sec	1
2	变性	95°C	10sec	40

3	退火、延伸 ^{*b}	60°C	30sec	
4	熔解曲线	使用仪器默认采集程序		

a: 预变性时间通常设定为 30 sec, 如果模板变性困难, 可以延长预变性时间至 1~2 min。

b: 通常情况下 PCR 扩增产物设计在 300 bp 以下, 退火、延伸反应条件设定为 60°C、30 sec 时可以满足要求; 如需提高反应特异性, 可适当提高退火温度; 如需提高扩增效率, 或者 PCR 扩增产物较长, 则可将反应延伸时间适当延长, 同时也可尝试进行三步法 PCR 扩增。此步骤进行荧光信号值采集。

三步法:

反应程序				
步骤		温度	时间	循环
1	预变性	95℃	30sec	1
2	变性	95℃	10sec	40
3	退火	55~65℃	10sec	
4	延伸	72℃	30sec	
5	熔解曲线	使用仪器默认采集程序		

4. 实验优化

若使用默认反应条件反应性能不佳时, 则需要进行反应条件的优化, 可以从引物浓度以及扩增程序两个方面进行:

① 引物浓度调整

当引物终浓度在 0.1~1.0 μM 范围之间变化时, 引物浓度越低, 扩增特异性越高, 但扩增效率会有所下降。

② 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。

【储存条件】

该试剂可在 -30 ~ -15°C 下避光保存 2 年, ≤0°C 运输。

【联系信息】



上海科驰皓生物科技有限公司

Shanghai Sciciho Biotech. Co., Ltd.

公司地址: 上海浦东新区宣秋路 139 号 1 号楼 621 室