2x Universal qPCR Master Mixture New

货号：DN2058

保存：-20℃

【试剂概述】

本体系是用于染料法（SYBR Green I）实时荧光定量的预混体系。产品含有优化浓度的 Hot Di Taq DNA Polymerase、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。产品中含有的增强剂成分对高 GC 含量的基因也会实现高效扩增。

本体系中含有通用 ROX，适用于所有 qPCR 仪器，本产品为 2×预混实时荧光定量 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。

【产品规格】

组分名称	DN2058-01	DN2058-05	DN2058-10	DN2058-100
2x **Universal** qPCR Master Mixture New	1.1ml	1.1ml*5	1.1ml*10	1.1ml*100

【注意事项】

1. 使用前请上下轻轻颠倒混匀，尽量避免气泡，并经短暂离心后使用。
2. 尽量减少产品在光下暴露的时间，避免荧光信号减弱。
3. 本品不能用于杂交探针法。

【保存条件】 -20℃恒温避光保存两年，避免反复冻融。

【使用方法】

标准操作流程：

以 20μlPCR 反应体系为例

1. PCR 反应体系建立：

组分	体积
DNA 模板	1 μl
上游引物(10 μM)	0.5 μl
下游引物(10 μM)	0.5 μl
2XFast qPCR Master Mixture（Green）	10 μl
DEPC-ddH_2O	补至 20 μl

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，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%。

引物：通常引物浓度以 0.2 μ M 可得到较好结果，可以终浓度 0.1~1.0 μ M 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，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 反应条件设置：

提示：a、预变性时间，多数模版设定为 95℃ 2 min，快速程序最短可设定为 30 s，复杂或高 GC 模板适当延长时间至 5 min。

b、变性时间，标准程序 10 s 快速程序最短可以选择 3 s。

c、退火/延伸时间，标准程序 30 s，对于 200bp 以内的扩增子，延伸时间最短可设定为 10 s，对于超过 350bp 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 。

两步法流程	温度	时间	
预变性	95℃	2 min	
变性	95℃	10 s	40 个循环
退火/延伸	60℃	30 s	
融解曲线		机器默认设置	
三步法流程	温度	时间	
预变性	95℃	2 min	
变性	95℃	15 s	
退火	55-60℃	15-30 s	40 个循环
延伸	72℃	30	
融解曲线		机器默认设置	

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。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，承诺为您更换等量合格产品，本公司对此产品所承担的责任仅限于产品价值本身。