

SYBR Green qPCR Master Mix (2×)

1 产品基本信息

产品名称（中文）：通用预混型 SYBR Green qPCR Master Mix（化学法）

产品名称（英文）：Universal Premixed SYBR Green qPCR Master Mix (Chemical)

产品编号：MF1806

2 规格或纯度

20 μ L \times 100 T, 20 μ L \times 500 T

3 产品介绍

产品简介：

SYBR Green 是一种可紧密结合 dsDNA 双螺旋小沟区域的染料。当 SYBR Green 与 dsDNA 相结合时，荧光信号会显著增强，增幅可达 800-1000 倍，是 qPCR 实验中常用的荧光染料。凭借高灵敏度和出色的信噪比等优势，在基因表达差异分析、基因芯片等领域得以广泛应用。

产品特点：

- 特异性强：灵敏度高，熔解曲线无双峰，拥有良好的特异性；
- 信噪比高：SYBR Green 荧光值高，荧光信号强。

适用范围：定量 qPCR

4 储存与运输

储存条件：-20°C 避光保存

运输条件：冰袋运输

5 使用方法（仅供参考）

● 在 PCR 管中制备反应液

反应组分	20 μ L 反应体系	终浓度
2× SYBR Green Master Mix	10 μ L	1×
F、R 引物	适量	0.2~1 μ M
模板	适量	--
10× ROX	适量	见表 1
H ₂ O	up to 20 μ L	N/A

注：DNA 模板添加量通常在 100 ng 以下，可根据实际样本情况进行调整。cDNA 为模板时添加量不超过 PCR 反应体系总体积的 10%；

(1) 引物终浓度可根据情况在 0.2~1 μ M 间调整，通常为 0.6 μ M。

● 选择扩增程序并运行

(1) 两步法

程序	温度	时间	循环
预变性	95°C	120 s	1
变性	95°C	5 s	40
退火	60°C	30 s	40

注：两步法适用于大多数引物 T_m 为 60°C 的扩增。

(2) 三步法

程序	温度	时间	循环
预变性	95°C	120 s	1
变性	95°C	5 s	40
退火	60°C	15 s	40
延伸	72°C	30 s	40

注：三步法适用于退火温度低于扩增温度的扩增。如扩增片段引物较长，易引发非特异性扩增，可提高延伸温度来降低这种情况。

● 实验数据整理与分析

6 常见问题

Q1: 扩增曲线不光滑

答：通常是因信号太弱，系统矫正导致，可提高模板浓度后重新实验。

Q2: 个别扩增曲线骤降

答：反应管内可能有气泡，扩增前仔细检查反应管有无气泡残留。

Q3: CT 值出现太晚

答：

- 扩增效率低：可尝试三步法程序，或重新设计引物；
- 模板浓度低：减少稀释度重新实验；
- 模板降解：重新制备模板，再进行实验。

Q4: 熔解曲线多峰

答：

- 引物设计不优：重新设计引物；
- 引物浓度太高：适当降低引物浓度；
- cDNA 模板带有基因组污染：重新制备 cDNA 模板。

7 注意事项

- 使用前请将产品瞬时离心至管底，务必充分混匀，避免剧烈震荡产生过多气泡。
- 退火温度根据引物 T_m 值设定， $50-60^{\circ}\text{C}$ 为宜。引物 T_m 值及扩增温度应接近 60°C （且 $50-60^{\circ}\text{C}$ ），这样可缩小退火与变性温度的差距，减少升温耗时，提高扩增效率。
- 为精确测定 Ct 值，部分机型需添加 ROX，其推荐使用浓度见表 1。ROX 会干扰熔解曲线分析，为避免杂峰干扰，在应用程序的“Passive Reference Dye”中，不要勾选检测 ROX 荧光值选项，再进行数据收集与分析。
- 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。