

## 2\* qPCR SYBR Green Master Mix

货号	有无 Rox	规格	适配仪器
SB-Q201	No rox	5*1ml	Roche: LightCycler 480/LightCycler 96; Bio-Rad: iCycleriQ / iq 5; CFX96 / CFX 384; Thermo; PikoRerl Lllumina; Eco 其他不需要 Rox 校准的仪器
SB-Q202	Low rox	5*1ml	ABI: Prism 7500 / 7500 Fast / QuantStudio; 3/5System: QuantStudio 6 / 7FlexSystem:ViiAsystem 其他需要 LOW Rox 校准的仪器
SB-Q203	High rox	5*1ml	ABI:Prism 7000/7300/7700/7900HT:StepOne/ StepOnePlus 其他需要 High Rox 校准的仪器

## 反应体系

1. 充分溶解并混匀 qPCR 反应所需的各种溶液。将 2×ShineTaq qPCR SYBR Green Master Mix 置于冰浴上或冰盒内。参考下表在冰上设置 PCR 反应：

Component	20 $\mu$ l Reaction	50 $\mu$ l Reaction	Final Concentration
2* qPCR SYBR Green Master Mix	10 $\mu$ l	25 $\mu$ l	1*
10 $\mu$ m Forward Primer	0.4 $\mu$ l	1.0 $\mu$ l	0.2 $\mu$ m
10 $\mu$ m Reverse Primer	0.4 $\mu$ l	1.0 $\mu$ l	0.2 $\mu$ m
Template DNA	variable	variable	variable
Nuclease-Free Water	To 20 $\mu$ l	To 50 $\mu$ l	

2. 当反应性能比较差时，可以在范围内对引物浓度 (50nM-500nM ) 和模板量较高，建议采用两步法 PCR 反应程序进行反应

## 反应程序

Step	Temp	Time
Initial Denaturation	95°C	5min
35-40cycles	95°C	10sec
	60°C	30sec
Melting curve analysis	95°C	15sec
	60°C	60sec
	95°C	15sec

模板量较低等因素导致扩增效果不佳，可使用三步法程序进行 PCR 反应

Step	Temp	Time
Initial Denaturation	95°C	5min
35-40cycles	95°C	10sec
	50-60°C	10sec
	72°C	10sec
Melting curve analysis	95°C	10sec
	60°C	10sec
	95°C	10sec

### 标准曲线制作

反应 Ct 值在 20-30 之间定量结果最为准确；反应 Ct 值过低，请稀释模板后重新进行试验；反应 Ct 值介于 30-35 之间时，可尝试提高模板量或扩大；反应体系，进行多次重复进行确认，提高准确性；反应 Ct 值 > 35 之间时，检测结果无法进行定量分析；融解曲线应该呈现单峰曲线，反应特异性好，无非特异性扩增产物产生，无引物高级结构，表示此时定量结果有效；若融解曲线出现显著多峰，则定量结果无效。

**储存条件：-20°C** 运输：冰上运输（避光）有效期：1 年

### 相关产品推荐

货号	名称	规格
SB-MR009	Trizol 总 RNA 提取试剂盒	100 ml
SB-RT001	一管式反转录试剂盒（55°C，含基因组 DNA 去除酶及 buffer） All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix (with dsDNase)	20 $\mu$ l * 50 次
SB-Q204	2*Universal SYBR Green Qpcr Premix	5*1 ml
咨询圣尔	96 孔板	10*5
	384 孔板	10*5
	封板膜	50 片/盒