

2×HSTaq-D qPCR SuperMix (SYBR Green)

目录号: AQ0103

Component	AQ0103A	AQ0103B	AQ0103C	AQ0103D
2×HSTaq-D qPCR SuperMix (SYBR Green)	1ml	1ml×5	5ml×4	50ml
50×Low ROX	40μl	200μl	800μl	1000μl×2
50×High ROX	40μl	200μl	800μl	1000μl×2
Nuclease-free Water	1ml	5ml	20ml	50ml

产品说明:

2×HSTaq-D qPCR SuperMix (SYBR Green) 用于DNA的定量分析。本产品包含热启动型Taq-D DNA聚合酶、dNTPs、SYBR Green和优化的反应缓冲液，浓度为2×。qPCR 反应时，只需加入模板、引物和水，使2×SuperMix溶液的浓度为1×即可进行反应。样本类型包括基因组DNA、质粒DNA、噬菌体DNA、cDNA等。热启动Taq-D DNA聚合酶为用抗体法修饰的改造型KlenTaq酶，无5' 外切酶活性，因而具有特异性强、检测灵敏度高等诸多优点。Buffer专门针对qPCR进行了优化，非常适合于进行高特异性、高灵敏度的qPCR检测。某些型号的qPCR仪需要ROX 参比染料。

- 减少qPCR操作时间。
- 避免因多步操作带来的污染。
- DNA片段的定量 (≤3 kb)。
- 热启动Taq-D DNA 聚合酶，非特异性扩增导致的假阳性信号低
- PCR抑制剂耐受浓度高，可用于直扩型qPCR。

特点:

扩增效率高、稳定性好。

适用范围:

SYBR green 染料型qPCR扩增。

保存:

4 度保存 1 个月；-20℃保存 1 年。

注意事项:

- 不适用于RNA的定量分析，RNA定量请使用本公司的SYBR Green型RT-qPCR 2×SuperMix (AQ0401系列)。
- 本品在4度避光保存3个月内稳定，尽量避免反复冻融，以免造成酶活下降。如每次使用量较少，推荐小份分装使用。
- 使用前请上下颠倒以混匀Master Mix，短暂低速离心后即可使用。请勿vortex避免酶失活，影响定量结果。
- 加样过程中轻柔吹打，如果操作不慎导致SuperMix起泡，需离心方可使用。
- 本品含有荧光染料SYBR Green I，需避光保存，配制反应体系时应尽量避免强光照射。
- 为了防止环境DNA的污染，反应体系配制时请于超净工作台内进行，配制过程中请使用灭菌枪头、反应管
- 由于本品检测灵敏度极高，易被空气中气溶胶污染。因此如经常检测某些特定基因，

应用举例：

以下反应举例为 50 μ l 标准 qPCR 体系，仅供参考。实际 qPCR 条件应根据模板、引物、目的片段大小加以优化，确定最佳反应条件。

1. 在qPCR管中配制如下混合液

Component	Volume	Final Concentration
HSTaq-D qPCR 2 $\times$ SuperMix (SYBR Green)	25 μ l	1 $\times$
Forward Primer (10 μ M)	1.5 μ l	0.3 μ M
Reverse Primer (10 μ M)	1.5 μ l	0.3 μ M
Template	Variable	as required
dd H ₂ O	Variable	-
Total volume	50 μ l	-

反应体系中各成分的量可根据以下原则自行调整：

- 有些q-PCR仪需要加入参比染料ROX进行校正，参比染料使用请咨询仪器生产商。
- 一般来说反应体系中引物终浓度为0.2 μ M即可得到较好的扩增效果。当反应性能比较差时，可以在终浓度0.1 - 1.0 μ M范围内调整引物浓度。
- qPCR灵敏度极高，加入模板量的准确程度对最终定量结果会有很大的影响。对于高浓度模板，推荐将模板稀释10-100倍后加入反应体系中，这样可以有效提高实验的准确性。

2. 按下列条件进行qPCR反应

(1) 常规扩增条件

95 $^{\circ}$ C	1 min	预变性
95 $^{\circ}$ C	5-10 sec	循环扩增 30-40 Cycles
50-60 $^{\circ}$ C	15 sec	
72 $^{\circ}$ C	15 sec	
72 $^{\circ}$ C	1 min	

(2) 退火延伸一步法扩增条件

95 $^{\circ}$ C	1 min	预变性
95 $^{\circ}$ C	5-10 sec	循环扩增 30-40 Cycles
60-68 $^{\circ}$ C	30 sec	
72 $^{\circ}$ C	1min	

注意事项

- 本预变性条件适合绝大多数扩增反应，如模板结构复杂，可将预变性时间延长至3 min，以提高预变性效果。
- 常规变性时间选择10 sec；快速变性时间最短可选5 sec。
- 常规扩增条件的退火温度可以根据引物的T_m值进行调整，当T_m较高时可以提高退火温度，增加扩增条带的特异性。
- (1) 常规扩增条件下，200-300 bp片段延伸时间72度15 sec，200 bp以内片段72度10 sec；(2) 退火延伸一步法扩增条件下，200-300 bp片段延伸时间60度30 sec；200 bp以内片段延伸时间60度20 sec。
- 退火延伸一步法扩增条件下的引物T_m值需要高于延伸温度3-5度。

