



2×SuperFast Universal SYBR Master Mix

目录号：CW3888S（1 mL）

CW3888M（5 mL）

CW3888H（40 mL）

保存条件：-20℃保存，冰袋运输，Mix解冻后可于2~8℃避光条件下稳定存放6个月。

产品内容

Component	CW3888S	CW3888M	CW3888H
2×SuperFast Universal SYBR Master Mix	1 mL	5×1 mL	40×1 mL
ddH ₂ O	1 mL	5×1 mL	40×1 mL

a.包含dNTP、Mg²⁺、SuperFastStar DNA Polymerase、ROX Reference Dye 等。

产品简介

2×SuperFast Universal SYBR Master Mix 是专用于染料法 (SYBR Green I) 实时荧光定量 qPCR 反应的专用预混液。核心组分SuperFastStar DNA Polymerase 为一种抗体法热启动 DNA 聚合酶，95℃加热5秒即可恢复 DNA 聚合酶活性，具有特异性强、检测灵敏度高等诸多优点，配以针对qPCR优化的最适buffer，反应液浓度为2×。本产品独特的qPCR缓冲体系与热启动酶的组合，有效抑制了非特异产物的产生，显著提高了qPCR 的扩增效率，非常适合于进行高特异性、高灵敏度的qPCR反应。

本产品还适用于qPCR快速反应程序、10 μL小体积反应，不影响特异性和高灵敏度的情况下可实现快速、准确地对目的基因进行检测和定量。可以在宽广的定量区域内得到良好的标准曲线，对靶基因定量准确、重复性好、可信度高。

注意事项

1. 使用前请上下颠倒轻轻混匀，尽量避免起泡，并经短暂离心后使用。加样过程中吹打要轻，如果操作不慎 Mix 起泡，需再次离心方可使用。
2. 本品尽量避免反复冻融，冻融次数 (≤ 10 次) 以免造成酶活下降。推荐小份分装使用。
3. 由于本品中含有荧光染料 SYBR Green I，因此需避光保存，配制反应体系时应尽量避免强光照射。
4. 由于本品检测灵敏度极高，易被空气中气溶胶污染。因此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，条件容许的实验室推荐使用专用的移液枪和带滤芯的枪头。
5. 本品中含有 ROX Reference Dye 适配大多数机型。

产品应用

本试剂用于 DNA 样本的扩增定量，可以扩增大多数物种来源的 DNA，样本类型可以是基因组 DNA、cDNA、质粒 DNA、 λ DNA 等。

使用方法

以下举例为常规 qPCR 反应体系和反应条件，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

1. qPCR 反应体系

试剂	20 μ L 体系	终浓度
2 \times SuperFast Universal SYBR Master Mix	10 μ L	1 \times
Forward Primer, 10 μ M	0.4 μ L	0.2 μ M ¹⁾
Reverse Primer, 10 μ M	0.4 μ L	0.2 μ M ¹⁾
Template DNA ²⁾	X μ L	
ddH ₂ O	Up to 20 μ L	

反应体系中各成分的量可根据以下原则自行调整：

1) 通常引物浓度终浓度为 0.2 μ M 可以得到较好结果，可以在终浓度 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，由此优化反应体系。

2) 通常 DNA 模板的量以 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。如模板类型为未稀释 cDNA 原液，使用体积不应超过 qPCR 反应总体积的 1/10。

2. qPCR反应程序

步骤	温度	时间	循环
预变性	95℃	5-30 s	1
变性	95℃	3-10 s	} 40-45
退火/延伸	60℃	10-30 s	
融解曲线	95℃	15 s	
	60℃	1 min	
	95℃	1 s	

注意：

- 1) 该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。
- 2) 标准程序选择30 s；快速程序最短可选5 s。对于200 bp以内的扩增子，延伸时间最短可设为3-10 s；超过200 bp时，推荐延伸时间为30 s。
- 3) 建议采用两步法PCR反应程序，退火温度请以58-62℃作为设定范围的参考，发生非特异性反应时，可提高退火温度。若因使用T_m值较低的引物等原因，得不到良好的实验结果时，可尝试进行三步法PCR扩增，退火温度请以56-64℃的范围作为设定参考。
- 4) 融解曲线分析请以所使用的荧光定量PCR仪推荐的程序进行设定，本程序是以ABI-Q5荧光定量PCR仪为参照设定。