

### 产品名称 & 产品编号

产品名称: 2X SYBR Green PreMix  
产品编号: S009-1ml/1ml\*5

### 产品组成及包装量

组分	规格
2X SYBR Green PreMix	S009-1ml/1ml*5

### 储存及注意事项

- 1) -20°C 避光保存, 如短期内频繁使用, 推荐置于 4°C 保存并于三个月内使用完毕, 避免长时间强光照射。
- 2) -20°C 长期储存时, 溶解后可能会出现少许白色沉淀, 可于室温放置片刻溶解后上下颠倒混匀, 沉淀消失后再使用。

### 产品介绍

本品是采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 Real-time PCR 的专用试剂, 含有经化学法修饰的热启动酶, 能够有效抑制低温条件下引物非特异性退火或者引物二聚体引起的非特异性扩增, 提高扩增反应的特异性。扩增效率高、检测特异性及灵敏度高、稳定性好、操作简便, 可在较宽定量区域内得到良好的标准曲线, 准确进行定量, 已预混配通用型 ROX, 与 Applied Biosystems、Eppendorf、Bio-Rad、Roche 及国产品牌等多种品牌荧光定量 PCR 仪兼容。本产品可用于实时荧光定量 qPCR (染料法) 扩增 DNA 或 cDNA; 绝对定量 qPCR; 相对定量 qPCR。

### 反应体系配制 (以 25ul 体系为例)

SYBR Green PreMix	12.5 $\mu$ l
Primer 1 (10 $\mu$ M)	0.5-2.5 $\mu$ l
Primer 2 (10 $\mu$ M)	0.5-2.5 $\mu$ l
Template DNA	1-5 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	Up to 25 $\mu$ l

各组分用量可根据实际需求进行调整

### 反应循环的设置

	两步法	三步法	循环数
95°C (预变性)	10-15min	10-15min	1
95°C (变性)	15sec	15sec	40Cycles
55°C-65°C (退火)	30sec (采集荧光)	15sec	
72°C (延伸)	-----	30sec (采集荧光)	
熔解曲线	-----	-----	-----

注: 反应条件可根据需求适当调整优化, 熔解曲线程序根据所使用的扩增仪程序进行适配选择。通常情况下, 可采用两步法进行反应; 若两步法扩增不理想, 可以采用三步法设置 PCR 反应程序。

### 常见问题解决方法

1. 请根据引物选择合适的退火 (延伸) 温度, 通常引物的 T<sub>m</sub> 值设计在 60°C 左右; 对于退火温度较低的引物, 建议采用三步法; 使用的引物终浓度可在 0.2-1.0  $\mu$ M 范围内调整; DNA 模板可根据浓度进行适当调整。
2. SYBR Green I 染料是非特异性染料, 可与双链 DNA (dsDNA) 结合后发出荧光, 同时其强光下易分解, 因此在设计引物时需要尽量避免引物二聚体的产生, 使用时避免长时间强光照射, 以提高检测结果准确性、灵敏度及特异性。
3. 提高镁离子浓度可以降低 SYBR Green I 对 PCR 反应的抑制作用, 建议在使用本产品进行荧光 PCR 反应优化时, 可适当增加镁离子浓度 (比普通 PCR 反应高出 0.5-3.0mM)。
4. 扩增前后要使用专用的区域和移液器, 戴手套操作并经常更换, PCR 反应完成后切勿打开反应管。以最大限度的减少 PCR 产物对检测环境的污染。