

SuperStar Universal SYBR Master Mix RM3391

产品信息

产品名称	产品货号	规格
2×SuperStar Universal SYBR Master Mix	RM3391	5×1mL
ddH ₂ O	RM3391	5×1mL

保存条件

-20℃避光冷冻保存

产品介绍

SuperStar Universal SYBR Master Mix 是染料法 (SYBR GreenI) 实时荧光定量 qPCR 反应的专用预混液，反应液浓度为 2×，本产品晃动不易产生气泡，此混合物中含有 ROX Reference Dye，可兼容多种 qPCR 仪，反应时只需加入引物和模板，操作简单、便捷。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、可兼容快速扩增程序和小体系扩增等诸多优点。

模板的制备

cDNA

cDNA 合成时的引物或逆转录酶会对 PCR 产生影响，建议稀释 10 倍以上使用，若使用原液进行检测，建议添加量不超过总反应体系的 10%。

gDNA

请使用普通 PCR 用的 DNA 纯化样品。如果是人类基因组 DNA，1~10ng 比较适当。如果加入大量基因组 DNA，会检测出基因组本身的信号，导致基线上飘。

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。

反应液的配置：

试剂	添加量	终浓度
2×SuperStar Universal SYBR Master Mix ¹⁾	10μL	1×
Forward Primer, 10 μM ²⁾	0.4μL	0.2μM
Reverse Primer, 10 μM ²⁾	0.4μL	0.2μM
Template DNA ³⁾	X μL	
ddH ₂ O	Up to 20μL	

1) 将 2×SuperStar Universal SYBR Master Mix 设定为反应体系的 1/2，其他的组成成份请参照最适条件进行调整。如需改变反应体系的总体积，其他组成成份也应按相同比例改变。

2) 通常引物浓度终浓度为 0.2μM 可以得到较好结果，可以在终浓度 0.1-1.0μM 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。

3) 通常 DNA 模板的量以 1-100ng 基因组 DNA 或 1-10ng 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。

4) 实际配制时，可先将除样品溶液之外的其他组份预混成 n+α 倍（n 为样品数，α 为分装损耗）的混合液，然后分到各管（即 n 管），最后在每管中分别加入相应的样品溶液。

反应程序的设置：

1. 反应液制备前，请将试剂完全融解、混匀后再使用。

步骤	温度	时间	循环
预变性 ¹⁾	95°C	30s	1
变性 ²⁾	95°C	5-15s	40-45
退火/延伸 ³⁾	60°C	10-30s *	
	95°C	15s	
溶解曲线 ⁴⁾	60°C	1 min *	
	95°C	1s	

1) 预变性条件适合绝大多数扩增反应，标准程序选择 30 秒，快速程序最短可选 5 秒。如模板结构复杂，可将预变性时间延长至 3 分钟以提高预变性效果。

2) 变性：标准程序选择 10 秒；快速程序最短可选 5 秒。

3) 退火/延伸：标准程序选择 30 秒；快速程序：对于 200bp 以内的扩增子，延伸时间最短可设为 10 秒；超过 200bp 时，推荐延伸时间为 30 秒。

4) 熔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。

*标注处设置信号采集。

细胞悬液样品：

- a. 第一次裂解，加入 5-8 倍细胞体积的红细胞裂解液，轻轻吹打混匀，4℃裂解 15 分钟，期间轻轻颠倒混匀 2-3 次。
- b. 450g 离心 10 分钟，弃红色上清。
- c. 如果发现红细胞裂解不完全，可以重复上述步骤 a、b 步进行短时（1-2 分钟）多次裂解。

【注】：后续每次加入的红细胞裂解液为上一次的一半，但最少不能低于 1mL。
直至红细胞裂解完全，裂解结束。通常极微量的红细胞不会影响后续的一些检测。

- d. 洗涤 1-2 次：加入适量 PBS、HBSS、生理盐水或无血清培养液，重悬沉淀，450g

离心 5min，弃上清。洗涤液的用量通常应至少为细胞沉淀体积的 5 倍。

- e. 根据实验需要用适当溶液重悬细胞沉淀后即可进行计数等后续实验。

血液样品：

a. 取 1 倍体积的新鲜抗凝血，加入 5-8 倍体积的红细胞裂解液，轻轻吹打混匀，4℃裂解 15 分钟，期间轻轻颠倒混匀 2-3 次，红细胞裂解后，溶液应该是清亮透明的。

b. 收集细胞：4℃，450g 离心 10 分钟以沉淀白细胞，小心吸弃上清液。

c. 向白细胞沉淀中加入 2 倍体积的红细胞裂解液，但最少不能低于 1mL，轻轻涡旋充分重悬白细胞，4℃裂解 1-2 分钟。

d. 4℃，450g 离心 10 分钟沉淀白细胞，小心并彻底吸去上清液。通常极微量的红细胞不会影响后续的一些检测。

e. 洗涤 1-2 次：加入适量 PBS、HBSS、生理盐水或无血清培养液，重悬沉淀，450g 离心 5min，弃上清。洗涤液的用量通常应至少为细胞沉淀体积的 5 倍。

- f. 根据实验需要用适当溶液重悬细胞沉淀后即可进行计数等后续实验。

注意事项

1. 裂解过程及离心需在 4℃的条件下进行。
2. 本裂解液为无菌产品，请注意保持无菌，使用本产品时宜在超净工作台内进行。
3. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。