



## SuperStar Blue Universal SYBR Master Mix

Cat. No. ME-MB0296

### 产品简介

SuperStar Blue Universal SYBR Master Mix 是染料法 (SYBR Green) 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。

本产品添加蓝色可视化色素，便于加样。

**保存条件：** -20℃ 避光冷冻保存。

### 产品内容

Component	ME-MB0296 -1ml	ME-MB0296 -5ml	ME-MB0296 -40ml
2×SuperStar Blue Universal SYBR Master Mix	1mL	5×1mL	40×1mL
ddH <sub>2</sub> O	1mL	5×1mL	40×1mL

## 注意事项

1. 使用前请上下颠倒轻轻混匀，并经短暂离心后使用。
2. 本品尽量避免反复冻融，不可反复冻融超过10次，以免造成酶活下降。
3. 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。
4. 由于本品中含有荧光染料SYBR Green I，配制反应体系时应尽量避免强光照射。

## 模板的制备

### cDNA

推荐使用本公司HiFiScript All-in-one RT MasterMix for qPCR (ME-MB0233) 将RNA逆转录为cDNA，进行qPCR检测，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 Blue Universal SYBR Master Mix <sup>1)</sup>	10μL	1×
Forward Primer, 10 μM <sup>2)</sup>	0.4μL	0.2μM
Reverse Primer, 10 μM <sup>2)</sup>	0.4μL	0.2μM
Template DNA <sup>3)</sup>	XμL	
ddH <sub>2</sub> O	Up to 20μL	

- 1) 将2×SuperStar Blue 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0.2 $\mu$ M可以得到较好结果, 可以在终浓度0.1-1.0 $\mu$ 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。
- 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+ $\alpha$ 倍 (n为样品数,  $\alpha$ 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 <sup>1)</sup>	95°C	30s	1
变性 <sup>2)</sup>	95°C	5-15s	
退火/延伸 <sup>3)</sup>	60°C	10-30s *	40-45
熔解曲线	使用仪器默认熔解曲线采集程序		

- 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。

\*标注处设置信号采集。