

# MagicSYBR Mixture

## 目录号:

M665651 (1 mL)

M665651 (5 mL)

M665651 (40 mL)

**保存条件:** -20℃避光, 如需频繁使用, 可存放于 2-8℃, 尽量避免反复冻融。

## 产品内容

Component	1 mL	5 mL	40 mL
2× MagicSYBR Mixture	1 mL	5×1 mL	40×1 mL
ROX Reference Dye I	40 μL	200 μL	1 mL
ddH <sub>2</sub> O	1 mL	5×1 mL	40×1 mL

## 产品简介

MagicSYBR Mixture 是专用于染料法(SYBR Green I)实时荧光定量 PCR 的预混体系, 浓度为 2×, 包含快速 Taq DNA Polymerase、PCR Buffer、dNTPs、SYBR Green I 荧光染料和 Mg<sup>2+</sup>, 操作简单方便。主要用于基因组 DNA 靶序列和 RNA 反转录后的 cDNA 靶序列检测。

本品含有的荧光染料 SYBR Green I 可以与所有的双链 DNA 相结合, 使用该产品可用于不同靶序列的检测而不需合成特异性标记探针。含有的快速 Taq DNA Polymerase 能有效减少在常温条件下由引物和模板非特异性结合或引物二聚体而产生的非特异性扩增, 酶的激活仅需在 95℃ 孵育 30 s, 大大缩短了 PCR 的反应时间。独特的 PCR 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 PCR 的扩增效率, 荧光信号更强, 灵敏度更高。

## 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。
2. 本产品中含有荧光染料 SYBR Green I, 保存本产品或配制 PCR 反应液时应避免强光照射。
3. 避免反复冻融本品, 反复冻融可能使产品性能下降。本产品可置于 -20℃ 避光长期保存。如果在短期内需要频繁使用, 可在 2-8℃ 保存。
4. 本品不能用于探针法荧光定量 PCR。
5. 如需更多 ROX Reference Dye I, 可联系当地业务员, 或致电康为世纪客服 4006-222-360。

上海阿拉丁生化科技股份有限公司

电话: 400-620-6333

## 使用方法

以下举例为常规 PCR 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. PCR 反应体系

试剂	50 $\mu$ L 体系	25 $\mu$ L 体系	20 $\mu$ L 体系	终浓度
2×MagicSYBR Mixture	25 $\mu$ L	12.5 $\mu$ L	10 $\mu$ L	1×
Forward Primer, 10 $\mu$ M	1 $\mu$ L	0.5 $\mu$ L	0.4 $\mu$ L	0.2 $\mu$ M <sup>1)</sup>
Reverse Primer, 10 $\mu$ M	1 $\mu$ L	0.5 $\mu$ L	0.4 $\mu$ L	0.2 $\mu$ M <sup>1)</sup>
Template DNA <sup>2)</sup>	X $\mu$ L	X $\mu$ L	X $\mu$ L	
Template DNA <sup>2)</sup> — —	—	—	—	
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 $\mu$ L	up to 25 $\mu$ L	up to 20 $\mu$ L	

注意：1) 通常引物浓度以 0.2  $\mu$ M 可以得到较好结果，可以在 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。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。3) ROX 染料用于校正定量 PCR 仪孔与孔之间产生的荧光信号误差，一般用于 ABI、Stratagene 等公司的 Real Time PCR 扩增仪。不同仪器的激发光学系统有所不同，因此 ROX 染料的使用量必须与相应的荧光定量 PCR 仪相匹配。几种常见仪器的最适 ROX

Reference Dye I 使用量见下表：

仪器类型	ROX 使用量
Roche 仪器、Bio-rad 仪器等	不用 ROX 染料校正
ABI Prism7500/7500 Fast、QuantStudio® 系列、Stratagene Mx3000/Mx3005P、Corbett Rotor Gene 3000 等	0.5 $\mu$ L /50 $\mu$ L 体系、0.25 $\mu$ L/25 $\mu$ L 体系、0.2 $\mu$ L/20 $\mu$ L 体系
ABI Prism7000/7300/7700/7900、ABI Step One/Step One Plus 等	5 $\mu$ L /50 $\mu$ L 体系、2.5 $\mu$ L/25 $\mu$ L 体系、2 $\mu$ L/20 $\mu$ L 体系

### 2. PCR 反应条件

步骤	温度	时间	
预变性	95°C	30 s	
变性	95°C	5 s	40-45 个循环
退火/延伸	60°C	30 s	40-45 个循环
融解曲线分析	95°C	15 s	
	60°C	1 min	
	95°C	15 s	
	50°C	30 s	

注意：1) 本产品所采用的酶须在预变性 95°C、30 s 条件下实现酶的活化。在此条件下，大多数模板可良好的进行解链。对 GC 含量高、二级结构复杂的模板，可将预变性适当时间延长至 1-10min，以使起始模板充分解链，可根据模板情况确定最佳的预变性时间。2) 建议采用两步法 PCR 反应程序，退火温度请以 60-64°C 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 Tm 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°C-64°C 的范围作为设定参考。3) 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 Roche 480 荧光定量 PCR 仪为参照设定。4) 大多数模板可以在 40 个循环得到很好的扩增曲线，对于低拷贝模板可增加至 45 个循环内，可根据实验确定最佳的循环数，以得到更好的扩增曲线。