

# Hieff UNICON® Advanced qPCR SYBR Master Mix

## 产品简介

Hieff UNICON® Advanced qPCR SYBR Master Mix 是 2×实时定量 PCR 扩增的预溶液，具有荧光强度高，灵敏度高和特异性强，扩增产量高等特点，颜色为蓝色，具有加样示踪的作用。核心组分 Hieff UNICON® Taq DNA 聚合酶采用抗体法热启动，可以有效抑制样品准备过程中引物退火导致的非特异性扩增。同时配方添加了提升 PCR 反应扩增效率因子和均衡不同 GC 含量（30~70%）基因扩增的促进因子，使定量 PCR 可以在宽广的定量区域内获得良好的线性关系。

## 产品信息

货号	11185ES03/11185ES08/11185ES50/11185ES60
规格	1 mL/5×1 mL/50×1 mL/100×1 mL

## 储存条件

-25~-15°C避光保存，有效期 18 个月。

## 使用说明

### 1. 推荐 qPCR 反应体系

组分	体积 (μL) ***	体积 (μL) ***	终浓度
Hieff UNICON® Advanced qPCR SYBR Master Mix	25	10	1×
Forward Primer (10 μM)*	1	0.4	0.2 μM
Reverse Primer (10 μM)*	1	0.4	0.2 μM
模板 DNA/cDNA**	x	x	-
无菌超纯水	Up to 50	Up to 20	-

表 1 qPCR 反应体系

\*通常引物终浓度为 0.2 μM，也可以根据情况在 0.1-1.0 μM 之间进行调整。

\*\*如模板为未稀释 cDNA 原液，使用体积不应超过 qPCR 反应总体积的 1/10，最佳模板加入量以保证扩增得到的 Ct 值在 20-30 个循环为宜。

\*\*\*推荐使用 20 μL 或 50 μL，以保证目的基因扩增的有效性和重复性；上机前需充分混匀，避免剧烈震荡产生过多气泡。

### 2. 反应程序

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	2 min	1
变性	95°C	10 sec	40
退火/延伸*	60°C	30 sec**	
熔解曲线阶段*	仪器默认设置		1

表 2 qPCR 反应程序

\*退火温度和时间：请根据引物和目的基因的长度进行调整。

\*\*荧光信号采集：请勿忘记打开荧光信号采集，按照仪器使用说明书要求进行实验程序设置，几种常见仪器的时间设定如下：

20 sec: Applied Biosystems 7700, 7900HT, 7500 Fast

31 sec: Applied Biosystems 7300

32 sec: Applied Biosystems 7500

\*\*\*熔解曲线: 通常情况下可以使用仪器默认程序。

## 适用机型

**ABI:** 7500, 7500 Fast, ViiA7, QuantStudio1, 3 and 5, QuantStudio 6,7,12k Flex;

**Stratagene:** MX3000P, MX3005P, MX4000P;

**Bio-Rad:** CFX96, CFX384, iCycler iQ, iQ5, MyiQ, MiniOpticon, Opticon, Opticon 2, Chromo4;

**Eppendorf:** Mastercycler ep realplex, realplex 2 s;

**Qiagen:** Corbett Rotor-Gene Q, Rotor-Gene 3000, Rotor-Gene 6000;

**Roche Applied Science:** LightCycler 480, LightCycler 2.0, Lightcycler 96;

**Thermo Scientific:** PikoReal Cycler; **Cepheid:** SmartCycler; **Illumina:** Eco qPCR

## 引物设计指南

1. 推荐引物长度 25 bp 左右。扩增产物长度 150 bp 为佳，可以在 100 bp-300 bp 内选择。
2. 正向引物和反向引物的 Tm 值相差不宜超过 2°C。引物 Tm 值 60°C-65°C 为佳。
3. 引物碱基分布均匀，避免出现连续的 4 个相同碱基，GC 含量控制在 50% 左右。3' 端最后一个碱基最好为 G 或 C。
4. 引物内部或者正反两条引物间最好避免出现有 3 个碱基以上的互补序列。
5. 引物特异性需要用 NCBI BLAST 程序进行核对。避免引物 3' 端有 2 个碱基以上的非特异性互补。
6. 设计完成的引物需要进行扩增效率的检测，只有具备相同扩增效率的引物才可用于定量比较分析。

## 注意事项

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
2. 解冻后 Master Mix 可能出现絮状或白色沉淀，手握缓慢溶解并上下轻柔颠倒混匀至溶液澄清，不影响试剂性能。
3. 推荐使用本公司 cDNA 合成试剂盒（货号：11141ES），以有效去除 RNA 样品中残留的基因组。
4. 若需要电泳，为了获得清晰的条带，建议将 qPCR 产物稀释 20-30 倍后进行电泳。
5. 本产品仅作科研用途！