



**ELK Biotechnology**

For research use only.

## EnTurbo™ SYBR Color qPCR SuperMix (Low ROX Premixed)

货号	规格	储藏/有效期
EQ033-1	20 µL x 500 rxns	-20°C/1年

### 产品优势

- ◆ 快速获得结果，可节省多达 50% 的时间
- ◆ 优化的即用型预混液用于快速 PCR 反应
- ◆ 准确检测各种起始量的模板，扩增稳定、定量结果具有高度重复性
- ◆ 平衡的 K<sup>+</sup>和NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 离子配比，确保高灵敏度和高特异性
- ◆ 通过染料间的变色反应，追踪移液过程，减少移液错误

### 产品描述

EnTurbo™ SYBR Color qPCR SuperMix 为优化的 2 x Real-time PCR 预混液，包含 HotStarTaq DNA Polymerase、SYBR Green I 荧光染料、dNTP 和 Mg<sup>2+</sup> 及 Low Rox。此外缓冲液中平衡的 K<sup>+</sup> 和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 离子配比可促进特异性的引物退火，确保高度灵敏和特异的 PCR 反应，只需在即用型 PCR 预混液中加入引物和 cDNA 模板，即可开始反应，大大简化操作过程，降低污染几率。独特的 PCR 缓冲液可确保在所有 Real-time PCR 仪上进行灵敏的 qPCR，无需优化。

此外，产品通过模板加入后的变色反应，实现了加样过程的可视化，极大提高了加样效率，避免加样误差。

### 适用机型

ABI7500、7500FAST、ViiA7、Stratagene Mx3000™、Mx3005P™ 以及 Mx4000™ 等。



## ELK Biotechnology

For research use only.

### 试剂盒组成

组分	500 rxns
2 x SYBR Color qPCR Mix (Low ROX)	4 x 1.25 ml
10 x Dilution Buffer	1 ml
ddH <sub>2</sub> O	4 x 1.25 ml
说明书	1份

### 试剂盒原理

EnTurbo™ SYBR Color qPCR SuperMix 可在大范围内进行特异性、灵敏的检测，适用于标准和快速 PCR 仪。预混液中的 SYBR Green I 染料可分析多个目标核酸，无需合成序列特异性探针。特制的快速 PCR 缓冲液，可大大缩短变性、退火和延伸时间，对复杂的模板、PCR 抑制剂残留较多的模板（如土壤和粪便 DNA）以及长片段扩增等具有较好的适用性。此外，HotStarTaq DNA Polymerase 可在 95°C 加热 30 sec 活化，需要严格的热启动，以避免生成非特异性产物。

### 试剂盒应用

EnTurbo™ SYBR Color qPCR SuperMix 可用于 cDNA 的基因表达分析，质粒、gDNA 以及测序文库的绝对定量分析。

### 注意事项

#### 1. 运输及保存方式

- 1) 冰袋、干冰运输。
- 2) -20°C 避光保存。本品含有荧光染料 SYBR Green I，保存或配制反应体系时需避免强光照射，使用前请务必颠倒混匀。
- 3) 为了您的安全及健康，实验操作时请穿实验服并佩戴一次性操作手套。

#### 2. 模板

- cDNA：对于两步法定量 qPCR，使用从 10 pg 到 1 ng 总 RNA 中逆转录的 10 μL cDNA。20 μL 反应体系中，cDNA 模板的使用量一般不超过 100 ng。需注意，当检测未稀释的 cDNA 中高丰度基因时，可能会导致定量 PCR 结果中 Ct 值过低，从而影响定量的准确性。将 cDNA 模板进行梯度稀释可以获得更准确的结果。
- 质粒和基因组 DNA：在 20 μL 体系里可使用 100 pg 至 1 ng 量的基因组 DNA 或 10<sup>1</sup>-10<sup>7</sup> 拷贝数的质粒 DNA。



## ELK Biotechnology

For research use only.

### 3. 10 x Dilution Buffer

2 x SYBR Color qPCR SuperMix 中添加了蓝色染料，10 x Dilution Buffer 中包含黄色染料。当 SYBR Color qPCR SuperMix（蓝色）中加入了用 Dilution Buffer 稀释的扩增模板（黄色）后，会产生蓝色→绿色的变色反应，从而可以根据液体颜色准确判断是否已经加入模板。

- 1) 10 x Dilution Buffer 为专用浓缩模板稀释液。实验过程中如需进行移液示踪，需将10 x Dilution Buffer 添加至已稀释好的模板溶液中（如 cDNA、质粒、gDNA 溶液等），使最终模板中 Dilution Buffer 的浓度为1 x。示例：使用 ddH<sub>2</sub>O 将模板稀释至目标浓度，然后在每 9  $\mu$ L 模板稀释液中加入1  $\mu$ L 10 x Dilution Buffer。
- 2) 使用 Dilution Buffer 进行移液追踪时，模板添加量为 2  $\mu$ L/20  $\mu$ L reaction。添加量低有可能导致显色偏淡，影响追踪效果；使用量过高，有可能干扰 qPCR 反应。
- 3) 如不需要进行移液追踪，则不使用 Dilution Buffer。

## 反应体系

建立如下所述的反应体系。若要进行多个反应，可制备通用组分的预混液，在每管或每孔中加入合适的体积，然后加入特殊的反应组分（例如：模板）。

成分	用量
2 x SYBR Color qPCR Mix (Low ROX)	10 $\mu$ L
PCR Forward Primer (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ L
PCR Reverse Primer (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ L
Template DNA/cDNA*	x $\mu$ L
ddH <sub>2</sub> O	up to 20 $\mu$ L

\*建议加入稀释后的模板

1. 推荐使用 20  $\mu$ L 体系以保证目的基因扩增的有效性和重复性。
2. 盖上或密封反应管/PCR 板，轻轻混匀。可以稍微离心，确保所有组分都在管底。
3. 将反应体系置于荧光定量 PCR 仪中，收集数据并分析结果。最适温度和孵育时间可视具体情形而定。



## ELK Biotechnology

For research use only.

两步法扩增程序:

阶段	循环数	温度	时间
预变性	1 x	95°C	30 sec
变性	35-40 x	95°C	5 sec
退火/延伸		60°C	30 sec
熔解曲线 (Melt Curve)			

三步法扩增程序:

阶段	循环数	温度	时间
预变性	1 x	95°C	30 sec
变性	35-40 x	95°C	5 sec
退火		50~60°C	30 sec
延伸		72°C	30 sec
熔解曲线 (Melt Curve)			

注: 1) 预变性时间: 满足大多数基因的扩增, 如果扩增片段为高 GC 含量片段或复杂结构样本, 可将预变性时间增加至 2 min。

2) 退火温度及时间: 可根据引物 T<sub>m</sub> 值及目的基因扩增长度进行调整。

3) 熔解曲线: 通常采用仪器默认程序。

## 结果分析

定量实验至少需要三个生物学重复。反应结束后需要确认扩增曲线及熔解曲线。