

## 2X M5 HiPer Dual SYBRgreen qPCR Super mix (双封闭法, Rox 独立包装) 使用说明书

产品名称	单位	货号
2X M5 HiPer Dual SYBRgreen qPCR Super mix	1.67ml*3 支	MF014-plus-01
2X M5 HiPer Dual SYBRgreen qPCR Super mix	(1.67ml*3 支)*5	MF014-plus -05
2X M5 HiPer Dual SYBRgreen qPCR Super mix	(1.67ml*3 支)*10	MF014-plus -10

### 【储存条件】

长期保存, 请置于-20°C, 有效期 24 个月。经常使用, 可置于 4°C 保存至少六个月。

### 【产品简介】

本产品是采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行实时荧光定量 PCR 的专用 2× 浓度预混液。利用聚合美特异的新型双封闭 HotStart Taq DNA Polymerase 抑制在常温下 Taq 酶的聚合酶活性, 从而抑制在低温条件下出现的由引物和模板 DNA 非特异性杂交或引物二聚体引起的非特异性扩增。特异的双阳离子缓冲液, 增强特异性, 减少引物二聚体的形成, 使得结果更加准确可靠。优化浓度的 SYBR Green I 荧光染料, 特异性地掺入 DNA 双链后, 荧光信号增强, 而不掺入链中 SYBR Green I 染料分子荧光信号不变, 从而保证荧光信号的增加与 PCR 产物的增加完全同步, 荧光可以在退火或延伸阶段测定。

### 【产品组份】

新型双封闭 HotStart Taq DNA Polymerase、SYBR Green I、dNTPs、Mg<sup>2+</sup>、ROX、反应缓冲液、稳定剂和增强剂。  
50× ROX Reference dye 250μl 独立包装。

### 【适用范围】

主要用于基因组 DNA 靶序列和 RNA 反转录后 cDNA 靶序列的定量检测。本品具有高通用性, 可用于各种仪器。产品中独立附加 ROX Reference Dye, 客户可以根据各种仪器特征调节 ROX 到最适浓度。因此可以用于需要校正荧光信号的仪器 (如 ABI Prism7000/7300/7700/7900HT 和 ABI Step One /ABI Step One Plus 荧光定量 PCR 仪)。也可以用于 Stratagene、Roche、Bio-RAD 和 Eppendorf 等各种荧光定量 PCR 仪上采用 SYBRGreen 法进行基因表达分析和核酸检测等实验。

### 【所需试剂】

本产品为 2× 预混荧光定量 PCR 反应体系, 使用时只需加入模板、引物和水, 使其工作浓度为 1×, 即可进行反应。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点, 可最大限度地减少人为误差、节约 PCR 实验操作时间、降低污染几率。

### 【操作示例】

按下表配制 PCR 反应体系:

Template DNA	Xμl*
2X M5 HiPer Dual SYBRgreen qPCR Super mix	10 μl
Primer 1 (10μM)	0.5 μl
Primer 2 (10μM)	0.5 μl
50× ROX Reference dye	0.4/0.04μl**
ddH <sub>2</sub> O 补足至	20 μl

### 建议的 PCR 条件:

95°C	60 sec.
35-40 cycles of:	
95°C	15 sec.
55-65°C	15 sec.
72°C	30-60 sec**.
Dissociation Stage	

\*: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。以 two Step RT PCR 反应的 cDNA (RT 反应液) 作为模板时的添加量要超过 PCR 反应液总体积的 10%。  
\*\*一般情况下目标片段在 300bp 以下时, 延伸时间 30 秒即可, 但一部分仪器, 为测定稳定的荧光, 延伸时间需要大于 30 秒。扩增曲线散乱, 或者各孔间差异较大时, 请设定较长的延伸时间 (45-60 秒)。

**\*\*适用机型及 ROX 用量**

本产品除了适用于普通及高速的模块型仪器外，还适用于使用玻璃毛细管的荧光定量 PCR 仪。由于 50x ROX reference dye 单独包装，对于需要 passive reference 的仪器，可以根据仪器的特征把 ROX 调整到最适浓度。

仪器	ROX 终浓度
ABI 7000,7300,7700,7900HT, StepOne, StepOnePlus	1X (1/50 量)
ABI 7500, 7500Fast, Agilent Mx3000P, MX3005P, MX4000	0.1X (1/500 量)
Roche Lightcycler 2.0, Nano, Bio-RAD MiniOpticon, CFX96Touch	不需要添加

**【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. 尽可能减少在光下的曝露时间，长时间的曝光可导致荧光信号强度的丧失。本品不能用于杂交探针法。

**【备注】**

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。