

Realtime PCR Super mix plus (SYBRgreen,with anti-Taq)使用说明书

产品名称	单位	货号
2×Realtime PCR Super mix plus	1.67ml*3 支	MF014-01
2×Realtime PCR Super mix plus	(1.67ml*3 支)×5	MF014-05
2×Realtime PCR Super mix plus	(1.67ml*3 支)×10	MF014-10

【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。首先利用 HotStart Taq DNA Polymerase 高温加热前，anti-Taq 单克隆抗体与 Taq 酶结合，抑制 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。其次利用聚合美特异的抑制剂，通过温度调节方式封闭 Taq 酶的底物结合位点，当温度低于 40°C 时，形成非活性的酶-抑制剂复合物，当温度升高至引物特异性的退火温度时，结合平衡向模板-特异性引物复合物形成方向移动，因此最大程度减少非特异性扩增产物，大大提高了 PCR 反应的精确性。此外，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】

HotStart Taq DNA Polymerase、聚合美特异抑制剂、SYBR Green I、dNTPs、Mg²⁺、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	X*μl
2×Realtime PCR Super mix plus	10 μl
Primer 1 (10μM)	0.5 μl
Primer 2 (10μM)	0.5 μl
50× ROX Reference dye	0.4/0.04μl**
ddH ₂ 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**.

*: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。