

## 2xRealtime PCR mix (SYBRgreen) 使用说明书

产品名称	单位	货号
2xRealtime PCR mix	1x5ml	MF015-505

**【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 2x浓度增强型预混液。产品含有优化浓度的**化学修饰**热启动 Taq DNA Polymerase、SYBR Green I、dNTPs、Mg<sup>2+</sup>、反应缓冲液和稳定剂等成分。主要用于基因组 DNA 靶序列和 RNA 反转录后 cDNA 靶序列的检测。化学修饰热启动 Taq DNA Polymerase 在 75°C 以下没有活性，从而有效避免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，酶的激活需要 95°C 孵育 5-10min。反应体系可在室温下配制，无需在冰上完成，操作方便。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】** 化学修饰热启动 Taq DNA Polymerase、SYBR Green I、dNTPs、Mg<sup>2+</sup>、ROX、反应缓冲液、稳定剂和增强剂。

### 【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。因产品中**已经添加了 ROX Reference Dye**，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 2x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 1x,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* $\mu$ l
2xRealtime PCR mix	10 $\mu$ l
Primer 1 (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l
Primer 2 (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O 补足至	20 $\mu$ l

#### 建议的 PCR 条件:

95°C	5-10min.
35-40 cycles of:	
95°C	15 sec.
55-65°C	15 sec.
72°C	30-60 sec**.
保持 4°C	

\*: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）。

### 【注意事项】

- 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。
- 尽可能减少在光下的曝露时间，长时间的曝露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。