

2x M5 FastSYBR Mixture (High ROX)

使用说明书

产品名称	单位	货号
2x M5 FastSYBR Mixture (High ROX)	5x1ml	MF306-01

【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】

2x M5 FastSYBR Mixture 是专用于染料法(SYBR Green I)实时荧光定量 PCR 的预混体系，浓度为 2×, 包含 Fast Taq DNA Polymerase、PCR Buffer、dNTPs、SYBR Green I 荧光染料和 Mg²⁺，操作简单方便。主要用于基因组 DNA 靶序列和 RNA 反转录后的 cDNA 靶序列检测。本品所含荧光染料 SYBR Green I 可以与所有的双链 DNA 相结合，使该产品可用于不同靶序列的检测而不需合成特异性标记探针。本品含有的 Fast Taq DNA Polymerase 能有效减少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，酶的激活仅需在 95°C 孵育 20s。整个 PCR 反应过程比普通反应可节省约 40 分钟，大大缩短了 PCR 的反应时间。独特的 PCR 缓冲体系与热启动酶的组合，有效抑制了非特异产物的产生，并显著提高 PCR 的扩增效率。该产品应用范围广，适用于普通和快速定量 PCR 程序。

【产品组份】

2x M5 FastSYBR Mixture
50×High ROX
Nuclease-free ddH₂O

MF306-01
5×1ml 支
200 μl
5×1ml 支

【ROX 调整方式】

ROX 染料用于校正定量 PCR 仪孔与孔之间产生的荧光信号误差，一般用于 ABI、Stratagene 等公司的 Real Time PCR 扩增仪。不同仪器的激发光学系统有所不同，因此 ROX 染料的浓度必须与相应的荧光定量 PCR 仪相匹配。本产品适用于需要 High ROX 校正的仪器：ABI Prism7000/7300/7700/7900, Eppendorf, ABI Step One/Step One Plus 等。

【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. 本产品中含有荧光染料 SYBR Green I，保存本产品或配制 PCR 反应液时应避免强光照射。
3. 避免反复冻融，反复冻融可能使产品性能下降。长期保存可置于-20°C，避光。如果在短期内使用，可在 2-8°C 保存。
4. 本品不能用于探针法荧光定量 PCR。

【操作示例】：按下表配制 PCR 反应体系：

Template DNA	X* μ l
2x M5 Fast SYBR Mixture	10 μ l
Primer 1 (10 μ M)	0.5 μ l
Primer 2 (10 μ M)	0.5 μ l
50 \times High ROX	0.5 μ l
Nuclease-free ddH ₂ O 补足至	20 μ l

建议的 PCR 条件（两步法）：**

95°C 预变性	30 sec.
35-40 cycles of:	
95°C	5 sec.
60°C	30 sec.
融解曲线分析	
95°C	15 sec.
60°C	1 min.
95°C	15 sec.
60°C	15 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）。

**注意：1) 本产品所采用的酶须在预变性 95°C、30s 条件下实现酶的活化。在此条件下，大多数模板可良好的进行解链。对 GC 含量高、二级结构复杂的模板，可将预变性时间延长至 1-4 分钟，以使起始模板充分解链。

2) 建议采用两步法 PCR 反应程序，若因使用 T_m 值较低的引物等原因，得不到良好的实验结果时，可尝试进行三步法 PCR 扩增，退火温度请以 56°C-64°C 的范围作为设定参考。

**【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。