



## 2×HQ SYBR qPCR Mix (High ROX)

Catalog # ZF503

### 产品组成:

试剂盒组成	ZF503-1	ZF503-2
2×HQ SYBR qPCR Mix (High ROX)	20 μl 反应×100 次 1 ml	20 μl 反应×500 次 1 ml×5
ddH <sub>2</sub> O	1.2 ml	1.2 ml×5

**保存条件:** -20°C避光保存。如频繁使用, 可2-8°C储存, 避免反复冻融。

**适用机型:** ABI Prism 7000/7300/7700/7900, ABI Step One, ABI Step One Plus, ABI 7900HT, ABI 7900HT Fast

### 产品简介:

本产品是专用于染料法 (SYBR Green I) 实时荧光定量PCR 的预混体系。2×浓度, 操作简单方便; 新一代的高效热启动酶, 针对qPCR优化的PCR buffer与增强剂, 使本产品特异性强, 灵敏度高, 在宽广的模板浓度范围可以得到良好的标准曲线, 定量准确, 重复性好, 可信度高。

### 注意事项:

1. 使用前请上下颠倒轻轻混匀, 避免起泡, 并经短暂离心后使用, 同时尽量防止污染。
2. 本产品中含有 SYBR Green I 和 High ROX 染料, 保存本产品或配制PCR 反应液时应避免强光照射。
3. 本品不能用于探针法荧光定量 PCR。

### 使用方法:

举例为常规使用方法, 实际操作中应根据模板、引物和目的片段大小不同进行相应的调整优化。

#### 1. PCR反应体系

试剂	20 μl 反应体系	终浓度
2×HQ SYBR qPCR Mix (High ROX)	10 μl	1×
Forward Primer, 10 μM	0.4 μl	0.2 μM
Reverse Primer, 10 μM	0.4 μl	0.2 μM
Template DNA/cDNA	X μl <sup>1)</sup>	
ddH <sub>2</sub> O	To 20 μl	

注意:

- 1) 因qPCR灵敏度高, 推荐对模板进行梯度稀释, 以确定最佳的模板使用量。如模板类型为未稀释cDNA 原液, 模板添加量不应超过总反应体系的1/10。
- 2) 推荐反应体系为20 μl, 也可以根据实际实验需求按比例扩大或者缩小反应体系。

#### 2. PCR反应程序

建议采用下表的两步法PCR程序设定, 若因Tm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, 三步法操作步骤详见官网。

步骤	温度	时间
预变性	95°C	30 s
变性	95°C	10 s
退火/延伸 <sup>1)</sup>	60°C	30 s <sup>2)</sup>

} 35-40 个循环

融解曲线分析<sup>3)</sup> 使用仪器默认程序

注意:

- 1) 发生非特异性扩增时, 可提高退火温度。
- 2) 对于300bp以内的扩增片段, 延伸时间30s即可, 200bp以内的扩增片段, 延伸时间20s即可。
- 3) 融解曲线分析请以所使用的荧光定量PCR仪推荐的程序进行设定。