



## 2×Turbo SYBR qPCR Mix (High ROX)

### 产品组成

试剂盒组成	YF303-1	YF303-2
2×HQ SYBR qPCR Mix (High ROX)	20 μl 反应×100 次 1 ml	20 μl 反应×500 次 1 ml×5
ddH2O	1.2 ml	1.2 ml×5

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

**适用机型:** Roche LightCycler 系列, MJ Research Chromo4, MJ Research Opticon 2, Takara TP-800, Bio-Rad 系列, Thermo Scientific Pikoreal 96, Qiagen Corbett Rotor-Gene 系列, Mastercycler ep realplex

### 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 荧光染料, 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:

#### 1. PCR 反应体系试剂

试剂	20 μl 反应体系	终浓度
2×HQ SYBR qPCR Mix (Without 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 <sup>①</sup> μl	
ddH2O	To 20 μl <sup>②</sup>	

注: 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。

③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。

#### 2. PCR 反应程序

步骤	温度	时间	
预变性	95℃	30 s	} 35-40 个循环
变性	95℃	10 s	
退火/延伸 <sup>①</sup>	60℃	30 s <sup>②</sup>	
融解曲线分析 <sup>③</sup>	使用仪器默认程序		

注: 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。

④建议采用表的两步法 PCR 程序设定, 若因 T<sub>m</sub> 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。