



ZOMANBIO

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

版本号: 2021-08-11

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 ₂ O	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: 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:

- 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。
- 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。
- 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 ¹⁾	
ddH ₂ O	To 20 μL	

注意:

- 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。
- 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℃	30 s
变性	95℃	3-10 s ¹⁾
退火/延伸 ²⁾	60℃	20-30 s ³⁾
融解曲线分析 ⁴⁾	使用仪器默认程序	

注意:

- 快速反应程序最短可用 3 sec。
- 发生非特异性扩增时,可提高退火温度。
- 对于200bp以内的扩增片段,延伸时间20s即可,200-300bp的扩增片段,延伸时间30s。
- 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。