



## HotStart qPCR SYBR Green Mix (2X)

### 使用说明书

#### 【产品简介】

HotStart qPCR SYBR Green Mix (2X)是采用SYBR® Green I嵌合荧光法进行Real-Time PCR的专用试剂。产品包含PCR Master Mix(2×)及Hotstart Taq DNA Polymerase, 其中PCR Master Mix(2×)含有PCR反应的增强剂和优化剂以及稳定剂, 浓度为2×, 同时添加了ROX内参染料, 使结果更加准确可信。本制品具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点, 可最大限度的减少人为误差。适用于高特异性PCR 反应、复杂模板如GC含量高(>60%), 有二级结构等的扩增和大规模基因检测。

#### 【试剂盒组成】

试剂盒组成	LK-0105A(20μl×100 次)	LK-0105B (20μl×500 次)
HS PCR Mix(2×)	1ml×1 支	1ml×5 支
RNase Free ddH <sub>2</sub> O	1ml×1 支	1ml×5 支
说明书	1 份	1 份

#### 【适用荧光 PCR 仪器】

以下机型需要另购 Rox Reference Dye(25mM)货号: LK-0113。

注意: ABI Prism7500, ABI Prism7500 Fast, MJ Research Chromo4, Corbett Rotor Gene 3000 机型, 添加 ROX Reference Dye 0.4μl/反应 (0.1X)。

ABI Prism7000/7300/7700/7900, Eppendorf, ABI Step One, ABI Step One Plus 机型, 添加 ROX Reference Dye 0.4μl/反应(1X)。

#### 【试剂运输及储存条件】

试剂盒运输可在2-8℃环境下进行。储存时, 须置-20℃避光保存。有效期为12个月, 请在有效期内使用。

#### 【操作步骤】

- 完全融化模板 DNA, 将 PCR Master Mix(2×)、特异性引物、NL Taq DNA polymerase 离心后置于冰浴上。(注意: 以下举例仅供参考, 实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异, 需根据实际情况, 设定最佳反应条件。)
- PCR 试剂准备: 在冰浴条件下按下表配制反应液。(注意: 反应体系可以灵活调整, 比如需要配制 20μl 反应体系, 每个反应中加入 PCR Master Mix(2×)相应的变为 10μl, 其它组分的终浓度不变并用 ddH<sub>2</sub>O 补足至 20μl。建议最小反应体系不小于 20μl, NL Taq HS 用量不小于 0.8U。)

反应成分	体积/反应	终浓度
PCR Master Mix(2×)	10μl	1×
Forward Primer (20μM)	0.25-0.5μl	0.1-0.2 μM
Reverse Primer (20μM)	0.25-0.5 μl	0.1-0.2 μM
模板 DNA	3-5μl	

- PCR 反应循环参数设定: (请参照各类仪器的操作软件进行设置)

步骤	温度		时间		循环数	
	Roche LightCycler	非 Roche 仪器	Roche LightCycler	非 Roche 仪器		
1	预变性	94℃	94℃	3分钟	3分钟	1
2	变性	94℃	94℃	15秒	20秒	40
	退火	55℃	55℃	30-40秒	30-40秒	
	延伸及检测荧光	72℃	72℃	30-60秒	40-60秒	
步骤2中进行荧光检测						

结果检测: 反应结束后取 10μl 反应产物, 琼脂糖凝胶电泳检测。

注: 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。