

## ● THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix的使用条件 [ABI QuantStudio™ 5]

### (1) 反应液的配置

下面是按20 μl体系进行反应的例子。

| 试剂                          | 20μl反应  | 最终浓度     |
|-----------------------------|---------|----------|
| 无菌水                         | X μl    |          |
| THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix | 10 μl   | 1x       |
| Forward Primer              | 6 pmol  | 0.3 μM*1 |
| Reverse Primer              | 6 pmol  | 0.3 μM*1 |
| 50X ROX reference dye       | 0.04 μl | 0.1x     |
| DNA溶液                       | Y μl    |          |
| 总体积                         | 20 μl   |          |

\*1:在扩增效率不高的情况下增加引物浓度, 或者在发生非特异性扩增的情况下(用低浓度模板进行反应时, 扩增曲线的差)降低引物浓度, 反应结果可能会改善。引物终浓度的参考值为0.2~0.6μM。

### (2) PCR循环条件设置

| 步骤   | 温度            | 时间   | 升降速率 |
|--|---------------|------|------|
| 预变性  | 94° C         | 20秒  | 最大   |
| PCR (40 cycles)                                | 变性 95° C      | 1~3秒 | 最大   |
|  | 退火 55~65° C*2 | 5秒   | 最大   |
|  | 延伸 72° C      | 30秒  | 最大   |
| (Data Collection请设定在延伸步骤)                      |               |      |      |
| 溶解曲线分析 (Melting / Dissociation Curve Analysis) |               |      |      |

\*2:退火温度的设定请在引物的Tm温度到 Tm - 5°C 范围内设定。  
非特异性反应过强时, 提高温度有时可以改善。

## 东洋纺(上海)生物科技有限公司

上海市浦东新区张杨路500号华润时代广场28楼AL单元

邮编: 200122

交货期限·订货相关咨询

Tel:021-5879-4900 Fax:021-5879-4901

E-Mail: sales@bio-toyobo.cn

产品内容·技术相关咨询

Tel:021-5879-4142 Fax:021-5879-5259

E-Mail: tech@bio-toyobo.cn

http://www.bio-toyobo.cn

