

## ● THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix的使用条件 [ABI 7900HT]

### (1) 反应液的配置

下面是基于TaqMan® Probe方法进行50 µl、25 µl体系反应的例子。

试剂	50µl反应	25µl反应	最终浓度
无菌水	X µl	X µl	
THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix	25 µl	12.5 µl	1x
Forward Primer	15 pmol	7.5 pmol	0.3 µM* <sup>1</sup>
Reverse Primer	15 pmol	7.5 pmol	0.3 µM* <sup>1</sup>
TaqMan® Probe	10 pmol	5 pmol	0.2 µM* <sup>1</sup>
50X ROX reference dye	1 µl	0.5 µl	1x
DNA溶液	Y µl	Y µl	
总体积	50 µl	25 µl	

\*1: Primer-Probe的供应商指定了添加浓度的情况下, 请按其指定的浓度。

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, 扩增曲线的起峰较差)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0.2~0.6 µM。

### (2) PCR循环条件设置

步骤	温度	时间	升降速率	
预变性	94° C	60秒	最大	
PCR (40 cycles)	变性	95° C	15秒	最大
	延伸	60° C* <sup>2</sup>	45秒	最大

(Data Collection请设定在延伸步骤)

\*2: 扩增效率不高的情况下, 可降低温度, 发生非特异性反应(用低浓度模板进行反应时, 扩增曲线的起峰较差)时, 可提高温度, 由此可改善反应结果。温度范围参考值为56~64° C。

## 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>