

● THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix的使用条件 [Roche LightCycler 2.0]

(1) 反应液的配置

下面是按20μl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
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	95° C	30秒	最大	
PCR (40 cycles)	变性	95° C	5秒	最大
	退火	60° C*2	5~15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T_m温度到T_m-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>