

● THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix的使用条件 [Qiagen RotorGene]

(1) 反应液的配置

下面是按 25 μ l 体系进行反应的例子。

试剂	25 μ l 反应	最终浓度
无菌水	X μ l	
THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix	12.5 μ l	1x
Forward Primer	7.5 pmol	0.3 μ M*1
Reverse Primer	7.5 pmol	0.3 μ M*1
DNA 溶液	Y μ l	
总体积	25 μ l	

*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 μ M。

(2) PCR 循环条件设置

步骤	温度	时间	升降速率	
预变性	95° C	60 秒	最大	
PCR (35~40 cycles)	变性	95° C	5~15 秒	最大
	退火	55~65° C*2	15 秒	最大
	延伸	72° C	10~30 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>