

● THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix的使用条件 [ABI StepOnePlus™]

(1) 反应液的配置

下面是按 25 μ l、20 μ l 体系进行反应的例子。

试剂	25 μ l 反应	20 μ l 反应	最终浓度
无菌水	X μ l	X μ l	
THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix	12.5 μ l	10 μ l	1x
Forward Primer	7.5 pmol	6 pmol	0.3 μ M*1
Reverse Primer	7.5 pmol	6 pmol	0.3 μ M*1
50X ROX reference dye	0.5 μ l	0.4 μ l	1x
DNA 溶液	Y μ l	Y μ l	
总体积	25 μ l	20 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 (40 cycles)	变性 95° C	15秒	最大
	退火 55~65° C*2	5~15秒	最大
	延伸 72° C	60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>