



## 2×HQ Probe qPCR Mix Catalog # ZF601

### 产品组成:

试剂盒组成	ZF601-1	ZF601-2
2×HQ Probe qPCR Mix	20 μl 反应×100 次 1 ml	20 μl 反应×500 次 1 ml×5
Dye ROX A (50×)	40 μl	200 μl
Dye ROX B (50×)	40 μl	200 μl
ddH <sub>2</sub> O	1.2 ml	1.2 ml×5

**保存条件:** -20°C保存。如频繁使用, 可2-8°C储存, 避免反复冻融。

**无需添加ROX Reference Dye:** Roche LightCycler系列, MJ Research Chromo4, MJ Research Opticon 2, Takara TP-800, Bio-Rad系列, Thermo Scientific Pikoreal 96, Qiagen Corbett Rotor-Gene系列, Mastercycler ep realplex

**添加Dye ROX A (50×):** Applied Biosystems 7500, 7500 Fast, QuantStudio 3, QuantStudio 5, QuantStudio 6, ViiA 7; Stratagene MX4000, MX3005P, MX3000P.

**添加Dye ROX B (50×):** Applied Biosystems 5700, 7000, 7300, 7700, 7900, 7900HT, 7900HT Fast, StepOne, StepOnePlus

### 产品简介:

本产品是专用于探针法实时荧光定量PCR的预混体系。2×浓度, 操作简单方便; 新一代的高效热启动酶, 针对qPCR优化的PCR buffer与增强剂, 使本产品特异性强, 灵敏度高, 在宽广的模板浓度范围可以得到良好的标准曲线, 定量准确, 重复性好, 可信度高。

### 注意事项:

1. 使用前请上下颠倒轻轻混匀, 避免起泡, 并经短暂离心后使用, 同时尽量防止污染。
2. 本制品中不含有探针。
3. 本品不能用于染料法荧光定量PCR。

### 使用方法:

举例为常规使用方法, 实际操作中应根据模板、引物和目的片段大小不同进行相应的调整优化。

#### 1. PCR反应体系

试剂	20 μl 反应体系	终浓度
2×HQ Probe qPCR Mix	10 μl	1×
Forward Primer, 10 μM	0.4 μl	0.2 μM
Reverse Primer, 10 μM	0.4 μl	0.2 μM
Probe	0.8 μl <sup>1)</sup>	
Dye ROX (A/B)	0.4 μl (不需要ROX的机型不添加)	
Template DNA/cDNA	X μl <sup>2)</sup>	
ddH <sub>2</sub> O	To 20 μl	

#### 注意:

- 1) 使用的探针浓度, 与使用的 Real Time PCR 扩增仪、探针种类、荧光标记物质种类有关, 试剂使用时请参照仪器说明书, 或各荧光探针的具体使用要求进行。通常探针终浓度在 0.1~0.5 μM 范围内进行调整。
- 2) 因qPCR灵敏度高, 推荐对模板进行梯度稀释, 以确定最佳的模板使用量。如模板类型为未稀释cDNA原液, 模板添加量不应超过总反应体系的1/10。
- 3) 推荐反应体系为20 μl, 也可以根据实际实验需求按比例扩大或者缩小反应体系。



# ZOMANBIO

本产品仅供科研使用. 请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

## 2. PCR反应程序

建议采用下表的两步法PCR程序设定, 若因Tm值较低的引物等原因, 得不到良好的实验结果时, 可尝试进行三步法PCR扩增, 三步法操作步骤详见官网。

步骤	温度	时间	
预变性	95°C	30 s	} 35-40 个循环
变性	95°C	10 s	
退火/延伸	60°C	30 s <sup>1)</sup>	

注意:

1) 对于300bp以内的扩增片段, 延伸时间30s即可, 200bp以内的扩增片段, 延伸时间20s即可。

# ZOMANBIO