

**描述:** 本制品是采用 SYBR Green 嵌合荧光法进行 Real-Time PCR 的专用试剂, 本 SYBR Green qPCR Mix 将化学修饰的热启动 3G-Taq DNA 聚合酶(100%热启动)、反应 Buffer、dNTP、SYBR Green 染料等试剂预混在一起, 是一种 5x浓度的单组分预混试剂。

3G-Taq DNA 聚合酶为第三代 DNA 聚合酶, 其具有最高的杂质耐受性(对乙醇、胍盐、肝素具有极高的耐受性), 因此, 对于纯度较差的 DNA 模板, 该 Mix 仍然可以获得理想的实验结果。RAPA3G DNA 聚合酶为化学法修饰的 HotStart 版本, 其在 50°C 以下 100%无活性, 只有 95°C 条件下加热 5min 后才能完全恢复酶的活力。因此该系统可以有效抑制非特异性 PCR 扩增, 极大的提高了 PCR 扩增特异性。该试剂盒独特的反应缓冲液, 可在宽范围中得到良好的扩增结果、检测灵敏度更高、信号更强。

#### 组分

名称	200Tx20µl	1000Tx20µl
5xChemi3G-SYBR Green Mix	800 µl	800 µl x5

(1) Chemi3G-SYBR Green Mix 不含 Rox 染料。

(2) 避光保存: -20°C 可保存 3 年。

#### 操作方法

1. 按照如下组分配制 20 µl PCR 反应体系:

	1x浓度
5xChemi3G-SYBR Green Mix	4 µl
Primer F (10 µM)	0.8 µl 400 nM
Primer R (10 µM)	0.8 µl 400 nM
模板 DNA	10 ng
ddH <sub>2</sub> O Up to	20 µl

2. 进行 Real-Time PCR 反应,通常采用两步法, 程序如下:

Stage 1	95°C	5 min	热启动
Stage 2	95°C	10 s	变性
40 cycles	55~60°C	20 s	收集信号 退火/延伸
Stage 3	Dissociation analysis		

注意: 由于该酶为化学修饰的热启动 RAPA3G DNA 聚合酶, 必须于 95°C 加热 5min 才能恢复酶的活性, 该热启动步骤不能缩短时间。

3. 反应结束后确认 Real-Time PCR 的扩增曲线、融解曲线和标准曲线。

#### 注意:

(1) 引物的使用浓度: 通常为 400 nM。如扩增效率较低, 可提高至 800 nM, 如扩增非特异性严重, 可降低到 200nM。

(2) 如扩增效率较低可降低时, 延伸温度可调整到 55°C 延伸 20s。或采用三步法 40x(95°C 10s, 55°C 10s, 72°C 20s)。

(3) 如非特异性扩增较严重时, 延伸温度可调整到 65-68°C 延伸 20s。