**AB HS Green qPCR Mix**

**■ 产品说明：**

本产品含抗体修饰的热启动酶、优化的缓冲液、SYBR GreenⅠ荧光染料、dNTPs、PCR稳定剂。本产品浓度为2×，使用时只需加入模板、引物和水，使其工作浓度为2×，即可进行反应。

**■产品组成**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品名称** | **包装规格** |
| **KTSM2311** | **KTSM2312** |
| 2×ABHS SYBR Green qPCR Mix | 1 ml | 5 ml |

**■保存**：

-20℃避光保存，保质期1年。

**■产品特点**：

（1）热启动，高效率，高特异；

（2）准确、便捷，良好的重复性、稳定性。

**■用途**：

PCR。

**■使用方法**：

**1. qPCR反应体系配制**

（1）以20 μl总反应体积为例准备反应体系。如果反应体积有变化，按比例调整用量；

|  |  |
| --- | --- |
| **组分** | **体积** |
| 2×AB HS SYBR Green qPCR Mix | 10 μl |
| 正向引物（2 μM） | 2 μl |
| 反向引物（2 μM） | 2 μl |
| 样本模板 | 2 μl |
| ddH2O | 4 μl |
| 总体积 | 20 μl |

**注：引物终浓度应在0.1-0.6 μM之间进行调节。一般情况下，终浓度为0.2 μM的引物可以得到较好的结果；**

（2）各组分添加完之后，轻柔混匀反应液。如果产生气泡，低速离心以除去气泡。

**2. qPCR反应条件设置**

（1）三步法热循环流程图

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **步骤** | **温度** | **时间** | **循环数** | **检测荧光** |
| 预变性 | 95℃ | 2 min | 1 | Off |
| 变性 | 95℃ | 10s | 40 | Off |
| 退火 | 60℃ | 20s | Off |
| 延伸 | 72℃ | 15s | On |

（2）两步法热循环流程图

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **步骤** | **温度** | **时间** | **循环数** | **检测荧光** |
| 预变性 | 95℃ | 2 min | 1 | Off |
| 变性 | 95℃ | 10s | 40 | Off |
| 退火 | 60℃ | 20-30s | On |

**3.熔解曲线分析**

基于SYBR Green I嵌合荧光染料的定量PCR在扩增结束后可以做熔解曲线分析，检查是否非特异性扩增或者引物二聚体。请参照所用qPCR仪的说明进行熔解曲线分析。