

## GNM 染料法荧光定量预混试剂说明书

**【产品名称】** GNM 染料法荧光定量预混试剂

**【产品货号及规格】** RXD06GS , 20 $\mu$ L × 500 次

**【产品介绍】**本产品为染料法 Real Time PCR 专用试剂，提供的 2x 预混液中包含 PCR buffer、MgCl<sub>2</sub>、dNTP、Taq 热启动酶以及 SYBR Green 等，只需加入引物、模板、ddH<sub>2</sub>O 便可进行 PCR 反应，操作简便。本产品提供的 ROX Reference Dye，用于消除信号本底以及校正孔与孔之间产生的荧光信号误差，方便客户针对不同型号荧光定量 PCR 仪时选择对应浓度使用。

**【产品组分】**

序号	组成	规格	数量
1	2x 染料法荧光定量预混液	1.25mL	4 管
2	50x ROX Reference Dye	1mL	1 管
3	ddH <sub>2</sub> O	1mL	4 管

**【使用说明】**

- 准备：将 2x Eagle Premix II (PCR) 反应液、引物、ddH<sub>2</sub>O、DNA 模板等平衡至室温，充分混匀并瞬时离心后，备用。
- 按下表配制反应液

试剂	50 $\mu$ L 体系	25 $\mu$ L 体系	20 $\mu$ L 体系	终浓度(推荐浓度)
2x 染料法荧光定量预混液	25 $\mu$ L	12.5 $\mu$ L	10 $\mu$ L	1x
上游引物 (10uM)	1.5 $\mu$ L	0.75 $\mu$ L	0.6 $\mu$ L	0.3 $\mu$ M
下游引物 (10uM)	1.5 $\mu$ L	0.75 $\mu$ L	0.6 $\mu$ L	0.3 $\mu$ M
DNA 模板	-	-	-	根据需求调整
50x ROX Reference Dye	-	-	-	根据设备选择
ddH <sub>2</sub> O	补足到 50 $\mu$ L	补足到 25 $\mu$ L	补足到 20 $\mu$ L	/

备注：引物浓度应根据需要对其浓度进行优化和调整；不同种类的 DNA 模板所含靶基因拷贝数不同，必要时可进行梯度稀释确定最佳模板浓度。预混液中 Mg<sup>2+</sup> 的终浓度为 2 mM，根据扩增体系情况可作适当优化，建议每次增加 0.5 mM Mg<sup>2+</sup> 浓度进行实验。

**常见 PCR 仪对应的 ROX Reference Dye**

仪器	终浓度
ABI7500、7500Fast	1x (例：50 $\mu$ L 体系加 1 $\mu$ L/T)
ABI PRISM700、7300、7700、7900HT、StepOne 等	5x (例：50 $\mu$ L 体系加 5 $\mu$ L/T)
Roche、Bio-Rad 等	无需添加
50x ROX Reference Dye	-

- 反应液充分混匀后，取相应体积加入 PCR 反应管，上机检测。

#### 4. 推荐反应条件 :

步骤	温度	时间	循环数
1	95°C	15min	1
2	95°C	10sec	45 个循环
	55~65°C 退火/延伸 , 采集信号	20-40 sec	
3	熔解升温	勾选	/

备注：引物退火/延伸温度可根据引物实际 Tm 值进行调整或优化。以上为两步法扩增程序，当出现扩增效率不佳或出现非特异性扩增时，可尝试采用三步法进行扩增。

【保存条件及有效期】 -20°C 保存，有效期 2 年，避免反复冻融。

【运输条件】 2-8°C 运输

#### 【基本信息】

生产企业名称/售后服务单位：北京金诺美科技股份有限公司

住所：北京市北京经济技术开发区经海四路 25 号院 16 号楼-01-5 层

联系方式：010-67880228

【说明书版本及修改日期】本说明书已正式发布，版本为 V1.1，本次修订日期为 2024 年 11 月 20 日。

【免责声明】本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其他用途。