



For research use only

ISO9001

### HiPi Real-Time PCR 2x Master Mix (SYBR Green)

Product	Quantity	Cat. No.	Remarks
HiPi Real-Time PCR	1 ml (100 reactions)	EBT-1801	
2x Master Mix (SYBR Green)	1 ml (100 reactions)	EBT-1802	2x ROX dye 포함

### 제품 설명

HiPi Real-Time PCR 2x Master Mix는 real-time PCR 반응에 필요한 Taq DNA polymerase, dNTP, 완충용액과 SYBR Green이 모두 포함되어 있어서 template DNA와 primer의 첨가만으로 real-time PCR을 할 수 있도록 만든 제품입니다.

본 제품은 2x 농축용액으로 제조되어 판매되며 최종 반응부피의 1/2 부피만큼을 반응에 넣어 사용하시면 됩니다. 1 ml로 제공되므로 20  $\mu$ l 표준반응을 100회 수행할 수 있는 제품입니다.

본 제품은 다양한 template의 시료를 이용할 수 있으며 높은 specificity, 높은 sensitivity, 넓은 dynamic range로 정확한 정량 분석을 할 수 있습니다. 또한 template와 primer를 제외한 모든 성분을 포함하고 있기 때문에 간편히 사용할 수 있으며, pipetting 오류에 의한 시료간 오차를 줄일 수 있는 장점이 있어 동일한 조건에서 동일한 결과를 얻으실 수 있습니다.

### 제품구성

- EBT-1801 : HiPi Real-Time PCR 2x Master Mix (with SYBR Green) 1 ml
- EBT-1802 : EBT-1801 제품에 reference dye인 ROX를 2x로 첨가한 제품입니다.  
Reference dye 사용을 권장하는 PCR 기종에 적합한 제품입니다.

### 응용분야

- Real-time quantification of DNA and cDNA targets
- Gene expression profiling
- Microbial & viral pathogen detection
- High resolution melting temperature 분석
- qPCR 을 이용한 다양한 application

### 품질검사

DNA 종합활성 시험, exo/endonuclease 오염 시험, 안정성 시험.

### 보관방법

장기보관을 위해서는  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 보관을 요하며, 용액을 녹인 후에는  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 두지 말고  $4^{\circ}\text{C}$ 에 보관하여 사용할 것을 권장합니다. 반드시 빛이 차단된 상태로 보관해야 하며  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 보관할 경우 6개월동안 안정합니다.

### 표준실험방법:

1. HiPi Real-Time PCR 2x Master Mix를 녹입니다.

2. 다음과 같이 20  $\mu$ l의 Real-Time PCR 혼합용액을 조제합니다.

HiPi Real-Time PCR 2x Master Mix	10 $\mu$ l
Primer up-stream(10 pmol/ $\mu$ l)	0.5 – 1 $\mu$ l
Primer down-stream(10 pmol/ $\mu$ l)	0.5 – 1 $\mu$ l
Template DNA	variable

최종부피가 20  $\mu$ l가 되도록 증류수를 첨가합니다.

3. 혼합용액을 잘 섞어준 후 real-time용 PCR tube 또는 plate에 넣어줍니다.

4. Real-time용 PCR cap이나 optical adhesive film을 tube 또는 plate에 덮어줍니다.

5. Real-time PCR machine의 프로그램에 따라서 반응을 진행합니다.

#### PCR 조건

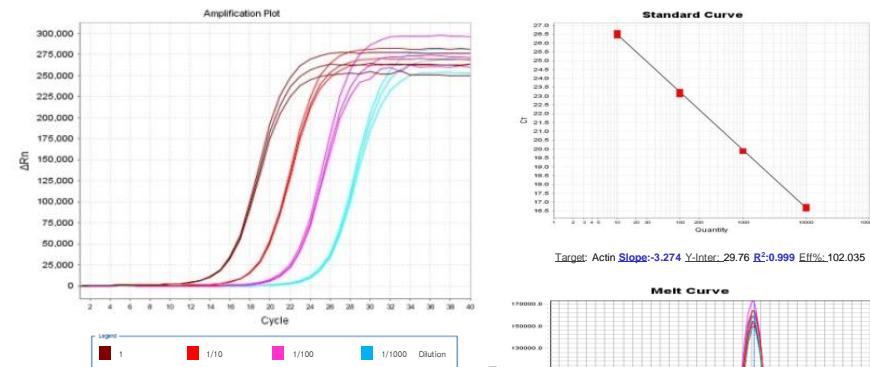
Initial denaturation	94 $^{\circ}\text{C}$	3 min
PCR cycle (25~40 cycles) <sup>a</sup>	94 $^{\circ}\text{C}$ 50~60 $^{\circ}\text{C}^{\text{b}}$ 72 $^{\circ}\text{C}$	10~30 sec 10~30 sec 30~60 sec
Melting curve 확인단계	optional	

참조 a. PCR cycle 수는 시료에 존재하는 표적유전자에 따라 달라집니다. 적은 양으로 존재하는 유전자를 증폭하기 위해서는 더 많은 cycle 수를 설정해야 하며 이는 사용자께서 결정해야 하는 내용입니다.

b. 최적의 annealing 온도는 사용하는 primer 쌍의 melting point ( $T_m$ )에 의해 결정됩니다. Primer  $T_m$ 값의 2~4  $^{\circ}\text{C}$  낮은 온도를 annealing temperature로 이용하시면 됩니다.

6. 반응을 마친 후 data 분석을 수행합니다.

### 예) Standard curve를 이용한 qRT-PCR 적용 : hActin



Template : 1  $\mu$ l cDNA from 20  $\mu$ l RT reaction of 1  $\mu$ g 293 total RNA  
Real-time PCR machine : ABI StepOne <sup>TM</sup>