

阴性对照采用非目标菌的 DNA 作为 PCR 反应的模板。
阳性对照采用目标菌标准品的 DNA 作为 PCR 反应的模板

9.3.4 荧光 PCR 反应体系

反应体系体积为 25 μL : $10\times\text{PCR}$ 缓冲液 2.5 μL 、引物(10 $\mu\text{mol/L}$)各 1 μL 、探针(3 $\mu\text{mol/L}$)1 μL 、dNTP(2.5 mmol/L)2 μL 、UNG 酶(1 U/ μL)0.06 μL 、*Taq* 酶(5 U/ μL)0.5 μL 、模板 DNA 2 μL 、灭菌去离子水补足 25 μL 。反应体系中各试剂的量可根据具体情况或不同的反应总体积进行适当调整,每个反应体系应设置两个平行反应。

9.3.5 荧光 PCR 反应参数

荧光 PCR 反应参数:50 $^{\circ}\text{C}$ 2 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 10 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s,58 $^{\circ}\text{C}$ 退火延伸 30 s 同时收集 FAM 荧光,进行 40 个循环

www.kinghunt.cn
凯恒生物

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
核苷酸序列测定方法

SN/T 2728—2010

*

中国标准出版社出版