

# SYBR Green Pro Taq HS 预混型 qPCR试剂盒 III (含低Rox)

SYBR Green Premix Pro Taq HS qPCR Kit III ( Low Rox Plus )

Code No. AG11739

包装量:	500 rxns / 20 μl
保存温度:	-20 °C

## 产品概述

本产品是利用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 qPCR 的试剂盒，是一种 2X 预混液，反应液配制十分简单，仅需加入引物、模板及 RNase free water 即可进行 qPCR 反应，使用方便。

本产品对 SYBR Green I 浓度、PCR 反应体系都进行了优化，采用了反应性能优越的 Pro Taq HS 体系，能够有效抑制非特异性产物的扩增，提高 PCR 扩增效率，同时，具有高荧光信号值，可以在宽广的定量区域内得到良好的扩增，从而达到准确的检测。

本产品中添加了低浓度的 ROX 染料，反应中 ROX 的终浓度为 0.04 μM，适用于低浓度 ROX 校准的定量 PCR 仪，或不需要校准的定量 PCR 仪。

## 保存及运输

保存温度: -20°C (避光保存)

运输温度: 干冰运输或-20°C 冰袋运输

## 产品组成

2X SYBR Green Pro Taq HS Premix III  
(Low Rox Plus) 1 ml x 5 pcs

注: 溶液在-20°C存放时可能会产生沉淀，使用前可于冰上溶解或手握溶解，颠倒混匀至沉淀全部消失。请勿涡旋振荡。

## 实验操作

(以 ABI QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Systems 为例)  
反应体系 (20 μl)

组分名称	反应终浓度	加入量
2X SYBR Green Pro Taq HS Premix III (Low Rox Plus)*1	1X	10 μl
Template	≤100 ng*2	-
Primer F(10 μM)	0.2 μM*3	0.4 μl
Primer R(10 μM)	0.2 μM*3	0.4 μl
RNase free water	-	up to 20 μl*4

\*1: 反应体系中 ROX 终浓度为 0.04 μM。产品避免反复冻融，防止酶活降低；使用前可上下颠倒混匀，请勿 vortex 振荡混匀；产品中含有 SYBR Green I，操作过程中注意避光。

\*2: 在 20 μl 体系里，DNA 模板添加量通常在 100 ng 以下，必要时可以将模板 DNA 进行稀释，以确定合适的模板添加量。如果使用本产品进行 cDNA 的定量 PCR 扩增，cDNA 原液使用体积不要超过定量 PCR 反应总体积的 10%。

\*3: 引物通常使用终浓度为 0.2 μM，当反应结果差时可以在 0.1 ~ 1.0 μM 范围内调整。

\*4: 请按照不同仪器推荐反应体系配制反应液。

qPCR 反应条件  
(两步法 PCR 反应程序)<sup>\*1</sup>

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	30 sec <sup>*2</sup>	1
变性	95°C	5 sec	
退火和延伸 <sup>*4</sup>	60°C <sup>*3</sup>	30 sec <sup>*3</sup>	40
	95°C	15 sec	
熔解曲线采集 <sup>*5</sup>	60°C	1 min	
	95°C	1 sec	1

\*1: 建议首先采用两步法 PCR 反应程序，如果得不到良好的实验结果时再优化反应条件；如果引物 Tm 值较低，导致两步法扩增效率较差，可采用三步法进行 PCR 扩增（三步法 PCR 反应程序可参考附录 1）。

\*2: 预变性时间通常设定为 30 sec，如果模板变性困难，可以延长预变性时间至 1 ~ 2 min。

\*3: 通常情况下 PCR 扩增产物设计在 300 bp 以下，扩增延伸反应条件设定为 60°C、30 sec 时可以满足要求；如需提高反应特异性，可适当提高退火温度；如需提高扩增效率，或者 PCR 扩增产物较长，则可将反应延伸时间适当延长，同时也可尝试进行三步法 PCR 扩增。

\*4: 此步骤进行荧光信号值采集。

\*5: 此步为必须步骤，此熔解曲线为 ABI QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Systems Standard 模式下默认程序。不同仪器的熔解曲线采集程序不同，选用仪器对应的默认程序即可。

## ➤ 结果检测

反应结束后，确认扩增曲线和熔解曲线，并进行标准曲线分析。  
(分析方法请参照仪器操作手册)

详细信息请查阅 [www.agbio.com.cn](http://www.agbio.com.cn)

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.

## ➤ 附录 1：三步法 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	30 sec	1
变性	95°C	5 sec	
退火	55°C	30 sec	
延伸 <sup>*1</sup>	72°C	30 sec	40
熔解曲线采集	见两步法 PCR 熔解曲线采集程序		1

\*1: 此步骤进行荧光信号值采集。

## ➤ 附录 2：适用的部分定量 PCR 仪

### ● 无需添加 ROX Reference Dye 的定量 PCR 仪：

(Bio-Rad) IQ5, CFX96™, CFX384™, CFX Connect™; MJOpticon, Opticon 2;

(Roche) LightCycler® 2.0, 480, 96;

(Analytik Jena) qTOWER3.

### ● 需要添加低浓度 ROX Reference Dye 的定量 PCR 仪：

(Thermo) ABI 7500, 7500 Fast, ViiA™7, QuantStudio™3 / 5, QuantStudio™6 / 7 / 12K Flex, QuantStudio™Dx;

(Agilent) Mx3000P™, Mx3005P™, MX4000™.