

SYBR Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒 (含高Rox)

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

Code No. AG11740

包装量:	500 rxns / 20 μ l
保存温度:	-20 $^{\circ}$ C

产品概述

本制品是采用SYBR® Green I 嵌合荧光法进行qPCR的专用试剂, 是2X premix 型试剂, 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。是在 SYBR® Green Premix Pro Taq HS qPCR Kit (Code. AG11701) 产品基础上预混了高浓度ROX 的2X Premix 试剂, 反应中 ROX 的终浓度为0.4 μ M, 无需额外添加, 方便使用。本制品中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 (混合了Taq抗体), 能够有效抑制非特异性扩增, 提高 PCR 扩增效率, 可以在宽广的定量区域内得到良好的工作曲线, 对靶基因进行准确定量检测。

保存

保存温度: -20 $^{\circ}$ C (避光保存)
运输温度: 干冰或-20 $^{\circ}$ C冰袋运输

产品组成

2X SYBR Green Pro Taq HS Premix (High Rox Plus)	1 ml X 5 pcs
---	--------------

注: 溶液在-20 $^{\circ}$ 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 StepOne Real-Time PCR System为例)

反应体系 (20 μ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
2X SYBR Green Pro Taq HS Premix (High Rox Plus) ^{*1}	1X	10 μ l
Template	≤ 100 ng ^{*2}	-
Primer F (10 μ M)	0.2 μ M ^{*3}	0.4 μ l
Primer R (10 μ M)	0.2 μ M ^{*3}	0.4 μ l
RNase free water	-	Up to 20 μ l ^{*4}

*1: 反应体系中 ROX 终浓度为0.4 μ M。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 μ l 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。如果使用本制品进行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 μ M, 当反应结果差时可以在0.1-1.0 μ M 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*1
(两步法PCR反应程序)**

步骤	温度	时间	循环数
Step 1	95°C	30 sec ²	1
Step 2	95°C 60°C	5 sec 30 sec ³	} 40
Step 3	Dissociation Stage		

*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, 可适当提高延伸温度; 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。

➤ 结果检测

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

➤ 附录1: 三步法PCR反应程序

步骤	温度	时间	循环数
Step 1	95°C	30 sec	1
Step 2	95°C 55°C 72°C	5 sec 30 sec 30 sec	} 40
Step 3	Dissociation stage		

➤ 附录2: 适合的定量PCR仪

- 无需添加ROX Reference Dye的定量PCR仪:
(Bio-Rad) IQ5, CFX96™, CFX384™, CFX Connect™, MJOpticon, Opticon 2;
(Cepheid) SmartCycler® System, Smart Cycler II System;
(Roche) LightCycler®2.0, 480, 96;
(Qiagen) Rotor-Gene® Q, 3000, 6000;
(Bioer) Line-Gene;
(Eppendorf) Mastercycler ep realplex;
(Analytik Jena) qTOWER3;
- 需要添加高浓度ROX Reference Dye 的定量PCR仪:
(ROX Reference Dye终浓度为0.4 μ M)
(Thermo) ABI 7000, 7300, 7700, 7900, 7900HT, 7900HT Fast, StepOne, StepOnePlus.

详细信息请查阅 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.