

# SYBR Green *Pro Taq* HS 预混型qPCR试剂盒 II (含高ROX)

Version 1

 SYBR Green Premix *Pro Taq* HS qPCR Kit II (High ROX Plus)

Code No. AG11741

**包装量:** 500 rxns / 20  $\mu$ l

**保存温度:** -20°C

## 产品概述

本制品是采用 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。本制品是在 SYBR Green Premix *Pro Taq* HS qPCR Kit II (Code. AG11702) 产品基础上预混了高浓度 ROX 的 2X Premix 试剂，无需额外添加 ROX，方便使用（反应中 ROX 的终浓度为 0.4  $\mu$ M）。

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，其混合了能在常温下抑制 *Taq* 酶活性的单克隆抗体，从而可以有效抑制非特异性扩增，提高 PCR 扩增效率，同时能够在宽广的定量区域内获得良好的工作曲线，对靶基因进行准确定量检测。

## 保存

保存温度：-20°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 <i>Pro Taq</i> HS Premix II (High ROX Plus)	1 ml X 5 pcs
---	--------------

## 实验操作

反应体系

组分名称	20 $\mu$ l 体系	50 $\mu$ l 体系
2X SYBR Green <i>Pro Taq</i> HS Premix II (High ROX Plus) *1	10 $\mu$ l	25 $\mu$ l
Template	$\leq$ 100 ng <sup>*2</sup>	$\leq$ 250 ng
Primer F (10 $\mu$ M) *3	0.8 $\mu$ l	2 $\mu$ l
Primer R (10 $\mu$ M) *3	0.8 $\mu$ l	2 $\mu$ l
RNase free water	Up to 20 $\mu$ l <sup>*4</sup>	Up to 50 $\mu$ l <sup>*4</sup>

\*1: 反应体系中 ROX 终浓度为 0.4  $\mu$ 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，请勿涡旋振荡混匀；产品中含 SYBR Green I，操作过程中注意避光。

\*2: 在 20  $\mu$ l 体系里，DNA 模板添加量通常不高于 100 ng，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 0.4  $\mu$ M，当反应结果差时可以在 0.1 - 1.0  $\mu$ 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。

反应条件（以两步法 PCR 扩增为例<sup>\*1</sup>）

步骤	温度	时间	循环数
Step 1	95°C	30 sec <sup>*2</sup>	1
Step 2	95°C	5 sec	} 40
	60°C <sup>*3</sup>	30 sec <sup>*3</sup>	
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 程序可参考附录）。

\*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)

## ➤ 附录：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	5 sec	} 40
	55°C	30 sec	
	72°C	30 sec	
Step 3	Dissociation stage		

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.