

# SYBR Green *Pro Taq* HS 预混型 qPCR 试剂盒 (含示踪染料, 含Rox)

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

Code No. AG11735

<b>包装量:</b>	500 rxns / 20 $\mu$ l
<b>保存温度:</b>	-20 $^{\circ}$ C

## 产品概述

本制品是采用 SYBR Green 嵌合荧光法进行 qPCR 的专用试剂, 2X Premix 中预混了 ROX Reference Dye, 反应中 ROX 的终浓度为 0.08  $\mu$ M, 无需额外添加, 方便使用。同时, 2X Premix 中添加了蓝色染料, 搭配黄色模板稀释液【40X Dilution Buffer (Yellow)】, 实现移液过程可视化: 将黄色稀释液与模板混匀后, 加入到蓝色的反应液中, 溶液会从蓝色变成绿色, 可根据颜色变化确认是否添加模板, 有利于大量样品的加样, 减少了误操作概率。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

运输温度: -20 $^{\circ}$ C 冰袋运输或干冰运输

## 产品组成

2X SYBR Green <i>Pro Taq</i> HS Premix (Blue, Rox Plus) *	1 ml X 5 pcs
40X Dilution Buffer (Yellow)	500 $\mu$ l

\*: -20 $^{\circ}$ C 存放可能会产生沉淀, 使用前可于冰上溶解或手握放置, 可上下颠倒混匀至沉淀全部消失, 请勿使用涡旋振荡。

## 实验操作

(以 ABI QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Systems 为例)

组分名称	反应终浓度	加入量
2X SYBR Green <i>Pro Taq</i> HS Premix (Blue, Rox Plus) *1	1 X	10 $\mu$ l
Template	$\leq$ 100 ng <sup>*2</sup>	-
40X Dilution Buffer (Yellow) *4	1 X	0.5 $\mu$ l
Primer F (10 $\mu$ M) *5	0.2 $\mu$ M	0.4 $\mu$ l
Primer R (10 $\mu$ M) *5	0.2 $\mu$ M	0.4 $\mu$ l
RNase free water	-	Up to 20 $\mu$ l <sup>*6</sup>

\*1: 该溶液避免反复冻融, 防止酶活降低; 使用前可上下颠倒混匀, 请勿涡旋振荡混匀; 溶液中含有 SYBR Green I 和 ROX, 操作过程中注意避免强光照射。

\*2: 在 20  $\mu$ l 体系里, DNA 模板添加量通常建议  $\leq$  100 ng; 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%。必要时可以将模板进行梯度稀释, 以确定合适的模板添加量。

\*3: 如果不需要模板移液示踪, 可不使用 40X Dilution Buffer (Yellow), 用 RNase free water 代替。如果需要模板移液示踪, 请先将模板与 40X Dilution Buffer (Yellow) 混匀, 再加入至反应预混液中; 若模板需要稀释, 应先用 RNase free water 稀释模板, 再按比例添加 40X Dilution Buffer (不能使用 Dilution Buffer 替代 RNase free water 稀释模板)。

- \*4: 40X Dilution Buffer (Yellow) 建议按照上述表格中推荐量加入, 用量过多可能会影响扩增性能, 用量过少可能颜色变化不明显。
- \*5: 引物通常使用终浓度为 0.2 μM, 也可以在 0.1 ~ 1.0 μM 范围内调整。
- \*6: 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) \*1

步骤	温度	时间	循环数
Step 1	95°C	30 sec <sup>2</sup>	1
Step 2	95°C 60°C <sup>3</sup>	5 sec 30 sec <sup>3</sup>	} 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 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, 同时也可以尝试进行三步法 PCR 扩增。

#### ➤ 结果检测

反应结束后, 确认扩增曲线, 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: 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;  
(TaKaRa) Thermal Cycler Dice™ TP700, TP760, TP900, TP960, TP950, TP970, TP980, TP990;

##### ● 需要添加 ROX Reference Dye (4 μM) 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™。

#### ➤ 附录 2: 三步法PCR程序

##### qPCR 反应条件 (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		