

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

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

产品概述

本产品是采用 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 的浓度为 0.08 μ 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, 降低误操作概率。

本产品中 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。

保存及运输

保存温度: -20 $^{\circ}$ C (避光保存)

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 μ 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 μ l
Template	≤ 100 ng*2	-
40X Dilution Buffer (Yellow) *4	1 X	0.5 μ l
Primer F (10 μ M) *5	0.2 μ M	0.4 μ l
Primer R (10 μ M) *5	0.2 μ M	0.4 μ l
RNase free water	-	Up to 20 μ l*6

*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 μ l 体系里, DNA 模板添加量通常建议 ≤ 100 ng; 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%。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 ²	1
Step 2	95°C	5 sec	} 40
	60°C ³	30 sec ³	
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 T_m 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

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

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		