

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

 SYBR Green Premix *Pro Taq* HS qPCR Tracking Kit II

Code No. AG11736

<b>包装量:</b>	500 rxns / 20 $\mu$ l
<b>保存温度:</b>	-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，是一种2X Premix试剂，反应液配制简便。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。

本产品中SYBR Green浓度、PCR反应体系都进行了优化，使其特异性强、PCR扩增效率高，可以进行高灵敏度的Real Time PCR反应，可以在宽广的定量区域内得到良好的工作曲线，从而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：干冰或者-20 $^{\circ}$ C冰袋运输

## 产品组成

2X SYBR Green <i>Pro Taq</i> HS Premix II (Blue) *	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 II (Blue) <sup>*1</sup>	1 X	10 $\mu$ l
Template	$\leq 100$ ng <sup>*2</sup>	-
40X Dilution Buffer (Yellow) <sup>*4</sup>	1 X	0.5 $\mu$ l
Primer F(10 $\mu$ M) <sup>*5</sup>	0.4 $\mu$ M	0.8 $\mu$ l
Primer R(10 $\mu$ M) <sup>*5</sup>	0.4 $\mu$ M	0.8 $\mu$ l
ROX Reference Dye (4 $\mu$ M) <sup>*6</sup>	0.08 $\mu$ M	0.4 $\mu$ l
RNase free water	-	Up to 20 $\mu$ l <sup>*7</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vortex振荡混匀；溶液中含有SYBR Green，操作过程中注意避免强光照。

\*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)。

例如，定量体系为20 μl，加入2 μl的cDNA模板和0.5 μl的40X Dilution Buffer (Yellow)，具体操作如下：在10 μl cDNA模板中加入2.5 μl 40X Dilution Buffer，然后加2.5 μl的混有Dilution Buffer的模板至蓝色的预混液中。

- \*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0.4 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的反应体系配制反应液。如果需要使用 ROX 进行荧光信号校准，请按照仪器推荐量添加。若不需要使用ROX的PCR仪，ROX Reference Dye 可使用RNase free water代替。
- \*7: 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 )**

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

注：请参照仪器操作手册设置反应条件。

➤ **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**

	仪器
<b>无需添加ROX</b>	(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) Mastercyclerpreplex; (Analytik Jena) qTOWER3.
<b>添加AG11703 ( 终浓度为0.4 μM )</b>	(Thermo) ABI7000, 7300, 7700, 7900, 7900HT, 7900HT Fast, StepOne, StepOnePlus.
<b>添加AG11710 ( 终浓度为0.08 μM )</b>	(Thermo) ABI 7500, 7500 Fast, ViiA7, 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℃	30 sec	1
Step 2	95℃	5 sec	} 40
	55℃	30 sec	
	72℃	30 sec	
Step 3	Dissociation Stage		