

SYBR Green *Pro Taq* HS 预混型 qPCR 试剂盒 III (含低Rox)

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

Code No. AG11739

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

产品概述

本制品是利用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。本制品对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，能够有效抑制非特异性产物的扩增，提高PCR扩增效率，同时，具有高荧光信号值，可以在宽广的定量区域内得到良好的扩增，从而达到准确的检测。本制品中添加了低浓度的ROX 染料，反应中 ROX 的终浓度为0.04 μ M，适用于低浓度ROX校准的定量PCR仪，或不需要校准的定量PCR仪。

保存

保存温度: -20 $^{\circ}$ C (避光保存)

运输温度: 干冰运输或-20 $^{\circ}$ C冰袋运输

产品组成

2X SYBR Green <i>Pro Taq</i> HS Premix III (Low Rox Plus)	1 ml X 5 pc
---	-------------

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 QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Systems 为例)

反应体系 (20 μ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
2X SYBR Green <i>Pro Taq</i> HS Premix III (Low 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0.04 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)

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: 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	5 sec 30 sec	} 40
	72°C	30 sec	
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;
- 需要添加低浓度ROX Reference Dye的定量PCR仪:
(ROX Reference Dye终浓度为0.04 μ M)
(Thermo) ABI 7500, 7500 Fast, ViiA™7, QuantStudio™ 3 / 5, QuantStudio™ 6 / 7 / 12K Flex, QuantStudio™ Dx;
(Agilent) Mx3000P™, Mx3005P™, MX4000™.