

SYBR Green Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒 (含UNG)

SYBR Green Premix Taq HS qPCR Kit (UNG Plus)

Code No. AG11756

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

产品概述

本产品是利用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 qPCR 的试剂盒，是一种 2X premix 型试剂，反应液配制十分简单，仅需加入引物、模板及 RNase free water 即可。同时，本产品采用了反应性能优越的 *Accurate Taq* HS DNA polymerase 体系，可以进行高灵敏度的 Real Time PCR 反应，从而实现对靶基因的准确定量与检测。

本产品中还引入了 dUTP/UNG 防污染系统，在 PCR 反应过程中以 dUTP 取代 dTTP，利用 UNG 酶能选择性水解含 dU 的 DNA 链，而对不含 dU 的 DNA 链没有任何影响的特性，除去 PCR 反应体系配制过程中引入的含 dU 的污染模板，从而可有效防止 PCR 假阳性结果的产生，提高实验结果的准确性。

保存及运输

保存温度：-20 $^{\circ}$ C 保存（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 Taq HS Premix (UNG Plus)*	1 ml X 5 pcs
---	--------------

*：溶液在 -20 $^{\circ}$ C 存放时可能会产生白色或淡黄色的沉淀，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^{*1}

组分名称	20 μ l 体系	50 μ l 体系
2X SYBR Green Taq HS Premix (UNG Plus) ^{*2}	10 μ l	25 μ l
Primer F (10 μ M) ^{*3}	0.4 μ l	1 μ l
Primer R (10 μ M) ^{*3}	0.4 μ l	1 μ l
ROX Reference Dye (4 μ M) ^{*4}	0.4 μ l	1 μ l
Template ^{*5}	\leq 100 ng	\leq 250 ng
RNase free water	up to 20 μ l	up to 50 μ l

*1: 请按照不同仪器推荐反应体系配制反应液。

*2: 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；产品中含有 SYBR Green I，操作过程中注意避光。

*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: 若需要使用 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 进行荧光信号校准，ROX Reference Dye 可使用 RNase free water 代替。



*5: 在 20 μl 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%。

qPCR 反应条件*1 (以两步法扩增为例)

步骤	温度	时间	循环数
UNG处理	25°C	10 min ²	1
预变性	95°C	30 sec ³	1
变性	95°C	5 sec	} 40
退火和延伸 ⁵	60°C	30 sec ⁴	
溶解曲线采集步骤	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。

*2: 建议在 25°C, 10 min 条件下进行 UNG 处理, 能够充分降解含 dU 的污染模板; 可根据实际需求在 5 ~ 10 min 范围内调整处理时间。

*3: 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。

*4: 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 (三步法 qPCR 反应程序可参考附录)。

*5: 此步骤进行荧光信号值采集。

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.

➤ 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)

➤ 附录: 三步法 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
UNG处理	25°C	10 min	1
预变性	95°C	30 sec	1
变性	95°C	5 sec	} 40
退火	55°C	30 sec	
延伸 ^{*1}	72°C	30 sec	
溶解曲线采集步骤	Dissociation stage		

*1: 此步骤进行荧光信号值采集。