

SYBR Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒 (含 Rox)

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

Code No. AG11718

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 I 嵌合荧光法进行 qPCR 的专用试剂, 是在 SYBR Green Premix Pro Taq HS qPCR Kit (Code. AG11701) 产品基础上预混了 ROX 的 2X Premix 试剂, 反应中 ROX 的终浓度为 0.08 μ M, 无需额外添加, 方便使用。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

保存温度: -20 $^{\circ}$ C

(避光保存, 长期保存放置在 -20 $^{\circ}$ C, 产品融化后可于 4 $^{\circ}$ C 保存 1 个月。)

运输温度: 干冰运输或 -20 $^{\circ}$ C 冰袋运输

产品组成

2X SYBR Green Pro Taq HS Premix (ROX 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 7500 Real-Time PCR System 为例) *4

组分名称	反应终浓度	加入量
2X SYBR Green Pro Taq HS Premix (ROX plus) *1	1X	10 μ l
Template*2	\leq 100 ng	-
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

*1: 反应体系中 ROX 终浓度为 0.08 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, 请勿涡旋振荡混匀; 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 模板添加量通常不高于 100 ng。必要时可以进行梯度稀释, 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%。

*3: 引物通常使用终浓度为 0.2 μ M, 也可以在 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

(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 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: 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)

➤ 附录: 适合的定量 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;

Thermo: ABI 7500, 7500 Fast, ViiA™7, QuantStudio™ 3 / 5, QuantStudio™ 6 / 7 / 12K Flex, QuantStudio™ Dx;

Agilent: Mx3000P™, Mx3005P™, MX4000™。

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.