

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

SYBR® Green Premix Pro Taq HS qPCR Tracking Kit

Code No. AG11733

包装量:	500 rxns / 20 $\mu$ l
保存温度:	-20 °C

## 产品概述

本制品是采用SYBR® Green嵌合荧光法进行qPCR的专用试剂, 2X Premix中添加了蓝色染料, 搭配黄色模板稀释液, 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。

本制品中SYBR® Green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标准曲线, 从而对靶基因进行准确定量、检测。

## 保存

保存温度: -20°C (避光保存)

运输温度: 干冰运输

## 产品组成

2X SYBR® Green Pro Taq HS Premix (Blue) *	1 ml x 5 pc
40X Dilution Buffer (Yellow)	500 $\mu$ l

\*: 溶液在-20°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  $\mu$ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
2X SYBR® Green Pro Taq HS Premix (Blue) <sup>*1</sup>	1X	10 $\mu$ l
Template <sup>*2</sup>	$\leq 100$ ng	-
40X Dilution Buffer (Yellow) <sup>*4</sup>	1X	0.5 $\mu$ l
Primer F(10 $\mu$ M)	0.2 $\mu$ M <sup>5</sup>	0.4 $\mu$ l
Primer R(10 $\mu$ M)	0.2 $\mu$ M <sup>5</sup>	0.4 $\mu$ 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 I, 操作过程中注意避免强光照射。

\*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%。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, 可直接使用常规的DNA或cDNA模板, 用RNase free water代替40X Dilution Buffer (Yellow); 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。

例如, 定量体系为20  $\mu$ l, 加入2  $\mu$ l的cDNA模板, 具体操作如下: 若模板不需要稀释, 可在10  $\mu$ l cDNA模板中加入2.5  $\mu$ l 40X Dilution Buffer, 然后加2.5  $\mu$ l的混有 Dilution Buffer 的模板至蓝色的预混液中; 若模板需要稀释, 应先用RNase free water正常稀释, 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) 请严格按照表格中推荐量加入, 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  $\mu$ M, 也可以在0.1 - 1.0  $\mu$ M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	cycles
Step 1	95°C	30 sec	1
Step 2	95°C	5 sec	} 40
	60°C	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](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

- 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™ TP950;
- 需要添加ROX Reference Dye (20  $\mu$ M) 的定量PCR仪:  
(ROX Reference Dye终浓度为0.4  $\mu$ M)  
(Thermo) ABI 7000, 7300, 7700, 7900, 7900HT, 7900HT Fast, StepOne, StepOnePlus;
- 需要添加ROX Reference Dye (4  $\mu$ M) 的定量PCR仪:  
(ROX Reference Dye终浓度为0.08  $\mu$ M)  
(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

##### qPCR反应条件 (三步法PCR反应程序)

步骤	温度	时间	cycles
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		