

SYBR Green *SupTaq* HS 预混型 qPCR 试剂盒 (含低 Rox)

 SYBR Green Premix *SupTaq* HS qPCR Kit (Low Rox Plus)

Code No. AG11762

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 的专用预混液，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 即可进行扩增。

本产品使用了适用于快速 PCR 反应的突变型 *Taq* DNA 聚合酶和在常温状态下能够抑制 DNA polymerase 活性的单克隆抗体，能够实现快速检测并能有效抑制非特异性产物的扩增。同时，本产品对 SYBR Green 浓度、PCR 反应体系都进行了优化，具有高荧光信号值，提高了 PCR 扩增效率，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。

本产品中添加了 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。

保存及运输

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>SupTaq</i> HS Premix (Low Rox Plus)	1 ml X 5 pcs
--	--------------

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>SupTaq</i> HS Premix (Low Rox Plus) *1	1X	10 μ l
Template	≤ 100 ng*2	-
Primer F(10 μ M)	0.4 μ M*3	0.8 μ l
Primer R(10 μ M)	0.4 μ M*3	0.8 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 0.4 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 10 ~ 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 扩增产物建议设计在 200 bp 以下, 扩增延伸反应条件设定为 60°C、10 sec 时可以满足要求, 如果扩增产物设计超过 200 bp, 建议将反应延伸时间延长至 30 sec; 如需提高扩增效率, 或者由于 PCR 扩增产物较复杂导致扩增效果不好, 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。如需提高反应特异性, 可适当提高延伸温度。

➤ 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	5 sec	} 40
	55°C	30 sec	
	72°C	10 ~ 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™.