

Version: AH 3.2 (2021.04.01修订)

2×SYBR Green qPCR Mix (Low ROX)

目录号: AH0102

01/产品组分

序号	组分	AH0102-A	AH0102-B
		125 rxn (20μL/rxn)	500 rxn (20μL/rxn)
1	2×SYBR qPCR Mix (Low ROX Premixed)	1.25 mL	1.25 mL×4
2	RNase Free H ₂ O	1.25 mL	1.25 mL×4

本产品适用机型见下表:

Low ROX /ROX	ABI 7500, 7500 Fast, ViiA™7, Quant Studio 3/5/ 6 Flex/7 Flex/12k
Reference Dye II	Flex, Stratagene MX4000, MX3005P, MX3000P

02/保存条件

本产品所有组分-20℃避光保存。

03/产品概述

本产品是采用 SYBR® Green I 嵌合荧光法进行 Real Time PCR 的专用试剂。将热启动 HotMaster Taq DNA 聚合酶、dNTP、特殊稳定剂、优化的反应缓冲液、BSA 和 SYBR® Green I 等试剂预混成一种适合 Real Time PCR 反应检测用的 2×Premix Type 试剂, 具有灵敏度高、特异性强、稳定性好等特点。使用时只需加入模板、引物和水, 便可在宽广的定量区域内得到良好的标准曲线, 对目的基因进行准确定量, 检测结果重复性好, 可信度高。

本品采用全新的 HotMaster Taq DNA 聚合酶, 该酶不同于一般 Hot-start 酶之处在于, 一般的 Hot-start 酶只在第一步温度升高之前封闭酶的活性, 而 HotMaster Taq DNA 聚合酶是利用抑制剂通过温度调节的方式封闭 HotMaster Taq DNA 聚合酶的底物结合位点, 温度低于 40℃时, 形成非活性的酶-抑制剂复合物, 当温度升高至引物特异性的退火温度时, 结合平衡向模板-特异性引物复合物形成方向移动, 可以最大限度的减少 PCR 扩增过程中的非特异性扩增产物产生, 大大提高荧光定量 PCR 反应的精确性。

04/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 本制品已加入低浓度的 ROX 参比染料，适用于需要低浓度 ROX 的机型。
- ◇ 本制品含 SYBR® Green I，强光下易分解，降低敏感度，使用时应避免强光长时间照射。
- ◇ 建议 PCR 反应液在冰上配制，可以提高扩增特异性，减少背景。
- ◇ 请冰上融化后，轻轻上下颠倒，混合均匀，避免起泡，并瞬时离心后使用。

05/建议PCR条件（以ABI 7500为例）

需要 Low ROX / ROX Reference Dye II 校准的操作方法，以 ABI 7500 为例；以 10 μL，20 μL 反应体系为例，其他体系可以按

照表格 Final Concentration 所示比例进行调整配制：

1. 配制PCR反应液：

Components	Volume (10 μL)	Volume (20 μL)	Final Concentration
2×SYBR qPCR Mix (Low ROX Premixed)	5 μL	10 μL	1×
DNA/cDNA*	X μL	X μL	as required
Forward Primer (10 μM)	0.2 μL	0.4 μL	0.2 μM each
Reverse Primer (10 μM)	0.2 μL	0.4 μL	0.2 μM each
RNase Free H ₂ O	up to 10 μL	up to 20 μL	

* 如模板类型为未稀释cDNA原液，使用体积不应超过qPCR反应总体积的1/10。

2. 设置PCR反应程序：

PCR循环（二步法）

94°C: 2-3 min
 94°C: 5-10 sec
 60°C: 34 sec*¹ } 40 cycles
 Dissociation Stage*³

PCR循环（三步法）

94°C: 2-3 min
 94°C: 10-20 sec
 55-60°C*²: 10-20 sec } 40 cycles
 72°C: 20-30 sec
 Dissociation Stage*³

*¹ 延伸时间请根据使用的机型所需要的数据采集最短时间限制自行调整：使用ABI 7500时至少34 sec。

*² 依据所研究的目的基因引物的T_m设置最适退火温度。

*³ 使用仪器默认融解曲线采集程序即可。

06/相关产品

AC0101 SparkZol Reagent

AC0202 SPARKeasy 组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒 (含基因组 DNA 清除柱)

AC1709 RNaseFree and DNase Free 纯水

AG0304 SPARKscript II RT Plus Kit (With gDNA Eraser)

AH0104 2×SYBR Green qPCR Mix (With ROX)

本产品仅用于科学研究!

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

