

产品名称 & 产品编号

产品名称: SYBR Green PreMix (Rox Provided Separately)

产品编号: S009S

产品组成及包装量

组分	500rxn/20ul Reaction
SYBR Green PreMix	5ml
50×Low Rox	200ul
50×High Rox	200ul

储存及注意事项

- 1) -20°C 避光保存, 如短期内频繁使用, 推荐置于 4°C 保存并于三个月内使用完毕, 避免长时间强光照射。
- 2) -20°C 长期储存时, 溶解后可能会出现少许白色沉淀, 可于室温放置片刻溶解后上下颠倒混匀, 沉淀消失后再使用。

产品介绍

本产品是采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 Real-time PCR 的专用试剂。SYBR Green PreMix 已经将热启动 HSUrTaqTMDNA 聚合酶、SYBR Green I、dNTPs、稳定剂、优化的反应 buffer 等预混成即用型溶液, 使用时只需加入模板、引物和水, 便可在广泛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, 重复性好, 准确性高。本品中所含热启动 UrTaqTMDNA 聚合酶为性能卓越的抗 Taq 抗体修饰的 Hot-start UrTaqTMDNAPolymerase, 可根据温度变化动态调节 UrTaqTM 酶活性, 能最大限度的抑制 PCR 过程中非特异性扩增产物的产生, 极大提高了荧光定量 PCR 反应的精确性。

本产品针对不同型号的实时荧光定量 PCR 仪, 分别提供不同浓度的 Rox 参比液 (HighRox/Low Rox), 用于校正孔与孔之间产生的荧光信号误差。

应用实例 反应体系配制

SYBR Green PreMix*a	10µl
Primer 1(10 µ M) *b	0.4µl
Primer 2(10 µ M)	0.4µl
50×High/Low Rox*c	0.4µl
Template DNA *d	2µl
ddH ₂ O	6.8µl
Total	20µl

*a) Mix 在使用前请充分颠倒混匀, 避免剧烈震荡产生过多气泡。

*b) 通常引物终浓度为 0.2 µ M 时即可得到较好的扩增结果, 当反应性能较差时, 可以在终浓度 0.1~1.0 µ M 范围内调整。

*c) Rox 的添加可根据不同仪器型号进行选择, 具体可参考【Rox 适用机型】。

*d) 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。

PCR 反应循环的设置

	温度	时间	循环数
预变性*1	95°C	2min	
2 Step PCR*2	95°C	10s	40
	60°C	30s	
Dissociation	使用不同仪器的默认溶解曲线采集程序即可		

*1 该预变性条件适合绝大多数扩增反应, 包括结构复杂的模板等。

*2 若引物 T_m 值较低或扩增片段较长时, 推荐延长延伸时间至 60sec。

反应体系优化

绝大多数情况下使用两步法即可获得良好扩增效果，在实际使用中可以根据机型推荐和具体情况对程序进行调整。如需提高反应特异性，可提高退火温度，建议在 60-64℃ 范围内调整；如需提高反应扩增效率，可以适当延长延伸时间或使用三步法程序：

温度	时间	循环数
95℃	10s	40
55-60℃	20s	
72℃	30s	

Rox 适用机型

无需添加 Rox 的机型： Roche LightCycler™480, LightCycler™96; Bio-Rad CFX96™, CFX384™, iCycler iQ™, iQ™5, MyiQ™, MiniOpticon™, Opticon®, Opticon2, Chromo4™; Cepheid SmartCycler®; Eppendorf Mastercycler®ep realplex, realplex 2 s; Illumina Eco qPCR; Qiagen/Corbett Rotor-Gene®Q, Rotor-Gene®3000, Rotor-Gene®6000; Thermo Scientific PikoReal Cycler.

HighRox 适用机型： Applied Biosystems 5700, 7000, 7300, 7700, 7900, 7900HT, 7900HT Fast; StepOne™, StepOnePlus™.

Low Rox 适用机型： Applied Biosystems 7500, 7500 Fast, ViiA™7; Stratagene MX4000™, MX3005P™, MX3000P™.