

## 2×SYBR Green qPCR Mix(With ROX)

**货号：**PMK2007

**保存：**-20℃避光保存，12个月有效。

**规格：**125rxn/500rxn

**用途：**主要用于Real Time PCR。

### 产品简介：

本产品是采用SYBR Green I嵌合荧光法进行Real Time PCR的专用试剂。本产品将热启动HotMaster Taq DNA聚合酶、dNTP、特殊稳定剂、优化的反应缓冲液和SYBR Green I等试剂预混成一种适合Real Time PCR反应检测用的2×浓度试剂，具有灵敏度高、特异性强、扩增效率高、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。

本品采用新型抗体修饰的HotMaster Taq DNA聚合酶，该聚合酶利用抑制剂通过温度调节方式封闭聚合酶的底物结合位点，无需额外加热即可进行反应，最大限度的减少了PCR扩增过程中非特异性扩增产物的产生，大大提高了荧光定量PCR反应的精确性。

### 产品内容：

| 组分名称                        | PMK2007-125rxn | PMK2007-500rxn |
|-----------------------------|----------------|----------------|
| 2 ×SYBR qPCR Mix            | 1.25 mL        | 1.25 mL*4      |
| ROX Reference Dye I         | 50ul           | 200ul          |
| ROX Reference Dye II        | 50ul           | 200ul          |
| RNase Free H <sub>2</sub> O | 1.25 mL        | 1.25 mL*4      |

ROX Reference Dye用于校正孔与孔之间的荧光信号误差。不同机型使用情况参见下表：

|                      |                                                                                                                                                                                                                                            |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ROX Reference Dye I  | ABI 5700/7000/7300/7700/7900/7900HT/7900HT Fast, ABI Step One, ABI Step One Plus                                                                                                                                                           |
| ROX Reference Dye II | ABI 7500, 7500 Fast, ViiA™7, Quant Studio3/5/6 Flex/7 Flex/12k Flex, Stratagene MX4000, MX3005P, MX3000P                                                                                                                                   |
| 不需要ROX Reference Dye | Bio-Rad<br>iQ5/Chromo4/iCycleriQ/CFX96/CFX384/Opticon/Opticon2/MyiQ/MiniOpticon, Eppendorf realplex 2s/Mastercycler ep realplex, Qiagen Rotor-Gene Q/Rotor-Gene 3000/Rotor-Gene 6000, RocheLightCycler 2.0/LightCycler 96/ LightCycler 480 |

### 使用方法：

需要 ROX Reference Dye II校准的操作方法，以 ABI 7500 为例；以 10uL，20uL 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<br>(10 µL) | Volume<br>(20 µL) | Final<br>Concentration |
|-----------------------------|-------------------|-------------------|------------------------|
| 2×SYBR qPCR Mix             | 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            |
| ROX Reference Dye II        | 0.2 µL            | 0.4 µL            | as required            |
| RNase Free H <sub>2</sub> 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）           |          | PCR循环（三步法）           |           |
|----------------------|----------|----------------------|-----------|
| 94℃:                 | 2-3 min  | 94℃:                 | 2-3 min   |
| 94℃:                 | 5-10 sec | 94℃:                 | 10-20 sec |
| 60℃:                 | 34 sec*1 | 55-60℃*2:            | 10-20 sec |
| Dissociation Stage*3 |          | 72℃:                 | 20-30 sec |
| 40 cycles            |          | 40 cycles            |           |
|                      |          | Dissociation Stage*3 |           |

A. 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；

B. 依据所研究的目的基因引物的T<sub>M</sub>设置最适退火温度。

C. 使用仪器默认融解曲线采集程序即可。

需要ROX Reference Dye I校准的操作方法，以ABI Step One Plus为例；以10uL，20uL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<br>(10 µL) | Volume<br>(20 µL) | Final<br>Concentration |
|-----------------------------|-------------------|-------------------|------------------------|
| 2×SYBR qPCR Mix             | 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            |
| ROX Reference Dye I         | 0.2 µL            | 0.4 µL            | as required            |
| RNase Free H <sub>2</sub> 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）           |          | PCR循环（三步法）           |           |
|----------------------|----------|----------------------|-----------|
| 94℃:                 | 2-3 min  | 94℃:                 | 2-3 min   |
| 94℃:                 | 5-10 sec | 94℃:                 | 10-20 sec |
| 60℃:                 | 30 sec*1 | 55-60℃*2:            | 10-20 sec |
| Dissociation Stage*3 |          | 72℃:                 | 20-30 sec |
| 40 cycles            |          | 40 cycles            |           |
|                      |          | Dissociation Stage*3 |           |

A. 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 7700和7900HT时至少30 sec；使用ABI 7000和7300时至少31 sec；使用ABI Step One Plus时至少10 sec。

B. 依据所研究的目的基因引物的T<sub>M</sub>设置最适退火温度。

C. 使用仪器默认融解曲线采集程序即可。

## 产品说明书

不需要ROX Reference Dye校准的操作方法，以Roche LightCycler 480为例；以10 $\mu$ L，20 $\mu$ L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<br>(10 $\mu$ L) | Volume<br>(20 $\mu$ L) | Final<br>Concentration |
|-----------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 2 $\times$ SYBR qPCR Mix    | 5 $\mu$ L              | 10 $\mu$ L             | 1 $\times$             |
| DNA/cDNA*                   | X $\mu$ L              | X $\mu$ L              | as required            |
| Forward Primer (10 $\mu$ M) | 0.2 $\mu$ L            | 0.4 $\mu$ L            | 0.2 $\mu$ M each       |
| Reverse Primer (10 $\mu$ M) | 0.2 $\mu$ L            | 0.4 $\mu$ L            | 0.2 $\mu$ M each       |
| RNase Free H <sub>2</sub> O | up to 10 $\mu$ L       | up to 20 $\mu$ L       |                        |

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）                            | PCR循环（三步法）                                   |
|---------------------------------------|----------------------------------------------|
| 94 $^{\circ}$ C: 2-3 min              | 94 $^{\circ}$ C: 2-3 min                     |
| 94 $^{\circ}$ C: 5-10 sec             | 94 $^{\circ}$ C: 10-20 sec                   |
| 60 $^{\circ}$ C: 30 sec <sup>*1</sup> | 55-60 $^{\circ}$ C <sup>*2</sup> : 10-20 sec |
| Dissociation Stage <sup>*3</sup>      | 72 $^{\circ}$ C: 20-30 sec                   |
|                                       | Dissociation Stage <sup>*3</sup>             |

A、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。

B、依据所研究的目的基因引物的T<sub>M</sub>设置最适退火温度。

C、使用仪器默认融解曲线采集程序即可。

### 注意事项：

- 1、本制品含独立包装参比染料ROX，客户可根据qPCR仪器技术指导决定是否需要加ROX和加入浓度，用于消除信号本底以及校正孔与孔之间产生的荧光信号误差。
- 2、本制品含 SYBR Green I，强光下易分解，降低敏感度，使用时应避免强光照射。
- 3、建议 PCR 反应液在冰上配制，可以提高扩增特异性，减少背景。
- 4、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。
- 5、扩增产物长度建议不要超过300bp。
- 6、20  $\mu$ L 体系中cDNA 的加入量（相当于总RNA 的量）建议 10 pg- 100 ng；基因组DNA的加入量建议 10- 100 ng；质粒的加入量建议不低于10 拷贝。
- 7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 8、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

### 相关产品：

- PMK1300 考马斯亮蓝蛋白胶快速染色液
- PMK0090 PBST 缓冲液
- PMK0029 PBS 缓冲液
- PMK0019 30%丙烯酰胺 (29:1)
- PMK0011 红细胞裂解液
- PMK1012 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒
- PMK053 GAPDH mAb-HRP conjugated
- PMK002 抗体稀释液



更多产品详情了解，请关注公众号：