

## AugeGreen qPCR Dye, 20X in Water

### 货号规格

货号	P6031-A	P6031-B
----	---------	---------

规格	1 mL	5 mL
----	------	------

### 产品简介

AugeGreen 是一种用于实时定量 PCR (qPCR) 的 DNA 结合染料。该染料与 SYBR Green I 有相似的光谱特性, 同时具有低抑制性、高稳定性和高安全性等优点, 适合替代 SYBR Green I 以及需要高分辨率熔解曲线的 qPCR 反应。

### 产品组成

Component	P6031-A	P6031-B
AugeGreen qPCR Dye, 20X in Water	1 mL	5 mL

### 保存条件

-20°C 避光保存。

### 产品参数

$\lambda_{abs}/\lambda_{em} = 500/530 \text{ nm}$  (结合 DNA)

$\lambda_{abs} = 471 \text{ nm}$  (未结合 DNA)

### 应用范围

实时定量 PCR、高分辨率熔解曲线

### 产品特点

- 低抑制性: AugeGreen 对 PCR 反应的抑制性显著低于 SYBR Green I, 可使用更高浓度, 从而获得更强的扩增信号, 适用于快速 PCR 步骤, 同时消除“染料重分布”问题, 支持多重 PCR 和高分辨率熔解曲线分析 (HRM)。
- 高稳定性: AugeGreen 在储存、操作和 PCR 过程中表现出极高的稳定性, 不会被破坏,

可安全储存在室温或冰箱中, 允许反复冻融。与之相比, SYBR Green I 不稳定, 降解后对 PCR 的抑制性更强。

3. 高安全性: AugeGreen 降低了细胞膜的透性, 经独立实验室测试, 无诱变性和细胞毒性。而 SYBR Green I 可能抑制细胞中正常 DNA 的修复机制, 具有潜在的诱变增强作用, AugeGreen 则不存在这些问题。

### 应用举例

#### 1. 配制 qPCR 反应体系

参考下表配制反应体系:

组分	用量
10X PCR Buffer (Mg <sup>2+</sup> free)	5 $\mu$ L
50 mM MgCl <sub>2</sub>	2.5 $\mu$ L
2 mM dNTP	5 $\mu$ L
AugeGreen qPCR Dye, 20X in Water	2.5 $\mu$ L
Taq DNA polymerase	1-5 U
F, R Primers <sup>[1]</sup>	0.1-0.5 $\mu$ M each
模板 DNA <sup>[2]</sup>	variable
ddH <sub>2</sub> O	补足至 50 $\mu$ L

[1]. 引物终浓度一般控制在 0.1-0.5  $\mu$ M 范围内。

[2]. DNA 模板的添加量通常在 100 ng 以下。因不同种类的 DNA 模板中含有的靶基因的拷贝数不同, 必要时可进行梯度稀释, 确定合适的 DNA 模板添加量。cDNA 作为模板时的添加量不要超过 PCR 反应液总体积的 10%。

#### 2. 设定反应程序进行 qPCR 反应

使用 SYBR Green 或 FAM 通道, 请根据实验需要参考以下示例进行程序设置:

阶段	温度	时间	循环数
预变性	94°C	3 min	1
变性	94°C	15 sec	40~45
退火	55-65°C <sup>[1]</sup>	15 sec	
延伸 <sup>[2]</sup>	72°C	20 sec <sup>[3]</sup>	
Dissociation/Melting curve analysis (optional) <sup>[4]</sup>			

[1] 最适退火温度需要摸索。退火温度一般设定为所用引物的  $T_m - 5^\circ\text{C}$ , 若低于 55°C, 则以  $T_m$  值为退火温

度，一般不低于 55℃。

[2] 在此步设置信号采集。

[3] 设置延伸时间时请考虑仪器类型，有些仪器需要设置 30 sec 以上。

[4] 不同仪器熔解曲线采集程序不同，一般按仪器默认熔解曲线采集程序即可。

### 3. 分析结果

观察扩增曲线；调整基线，计算 Ct 值；观察熔解曲线检测特异性；进行相对或绝对定量。

#### 注意事项

1. qPCR 仪器：对于 *iCycler* 的用户，不需要在 *PCR Mix* 里面额外添加 *FAM*。由于 *AugeGreen* 有轻微的背景荧光，它可以作为充足且稳定的校准基线来使用。对于 *Roche Light Cycler* 的用户，如果使用玻璃毛细管进行反应，那么需要在反应体系中额外加入 *BSA*（终浓度~0.5 mg/mL）；如果使用透明的塑料毛细管，则不需要添加 *BSA*。

2. 熔解曲线分析仪器：*Rotor-Gene 6000*, *ABI 7500 FAST*, *HR1™*, *384-well LightScanner™*, *Roche LightCycler 480*, *Rotor-Gene 6000*, *ABI 7500 FAST* 和 *Roche LightCycler 480* 等仪器都可以用于 qPCR 和熔解曲线的分析。具体参照仪器生产商的使用说明进行数据的采集和分析操作。

3. 扩增片段长度：推荐的 *DNA* 扩增长度为 50-200 bp，如果需要扩增更长的 *DNA* 片段，那么需要适当延长 *PCR* 的反应时间。

本品仅供科学研究使用。