

QuantiNova™ SYBR® Green PCR 用户手册

使用 SYBR Green 实现高灵敏度、超快的实时定量
PCR 以及两步法 RT-PCR

draft

产品包装清单

QuantiNova SYBR Green PCR Kit	(100)	(500)	(2500)
货号	208052	208054	208056
反应次数 (20 µl/10 µl)	100/ 200	500/ 1000	2500/ 5000
2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix	1 ml	3 x 1.7 ml	15 x 1.7 ml
包含:			
• QuantiNova DNA Polymerase (包括 <i>Taq</i> DNA Polymerase、QuantiNova Antibody 和 QuantiNova Guard)			
• QuantiNova SYBR Green PCR Buffer			
• dNTP mix (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)			
QuantiNova Yellow Template Dilution Buffer	500 µl	500 µl	5 x 500 µl
QN ROX™ Reference Dye	250 µl	1 ml	5 x 1 ml
RNase-Free 水	1.9 ml	1.9 ml	5 x 1.9 ml
快速入门指南	1	1	1

存储

QuantiNova SYBR Green PCR Kit 采用干冰保存运输。收货后宜立即置于 -15℃ 至 -30℃ 恒温冷冻柜中避光保存。请务必遵照上述储存条件并正确处理，否则无法保证试剂盒在保质期（见包装盒内或外包装上的质检标签）前的性能。QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix、QuantiNova Yellow Template Dilution Buffer 和 QN ROX Reference Dye 宜避光保存，可在 2-8℃ 条件下稳定保存 6 个月，具体时间视保质期而异。

QN ROX Reference Dye 可视需要加入到 2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix 中以便长期储存。有关详情，[请参阅第 11 页](#)“向预混液中添加 ROX 染料”部分。

产品规格

2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix 包含：

组分	描述
QuantiNova DNA Polymerase	QuantiNova DNA Polymerase 是一种最初提取自水生栖热菌的改良型重组 94 kDa DNA 聚合酶，以非活化状态提供，在室温下无酶活性，可经由 2 分钟、95°C 热启动步骤活化。
QuantiNova SYBR Green PCR Buffer	包含 Tris、NH ₄ ⁺ 、K ⁺ 、Mg ²⁺ 和有助于加速反应循环的添加剂
dNTP mix	包含超纯品质的 dATP、dCTP、dGTP 和 dTTP
荧光染料	SYBR Green I
QN ROX Reference Dye	经优化的荧光染料浓度，确保所有 Applied Biosystems® 仪器上的荧光信号均一化
QuantiNova Yellow Template Dilution Buffer	超纯级、PCR 级
RNase-Free 水	超纯级、PCR 级

原理和步骤

2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix

2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix 的组分包括 QuantiNova DNA Polymerase 和 QuantiNova SYBR Green PCR Buffer。这款优化的预混液可确保超快、高特异性和灵敏度的实时 PCR 扩增。

新型抗体介导的热启动机制

QuantiNova DNA Polymerase 以非活化的状态提供，在室温下无酶活性。这一设计可防止在反应体系构建和第一个变性处理步骤过程中形成非特异性退火引物以及发生非特异性退火引物延伸，确保 PCR 结果高度特异、定量结果精确。在低温下，通过 QuantiNova Antibody 和一款新型添加剂 QuantiNova Guard，可以保持复合物稳定，使 QuantiNova DNA 聚合酶保持在非活化状态。这一特性确保了热启动的精确性。

在 2 分钟内将温度升高至 95°C，QuantiNova Antibody 和 QuantiNova Guard 变性，DNA 聚合酶激活，PCR 扩增反应启动（图 1）。热启动机制使您可以在室温下快速、方便地构建反应体系。

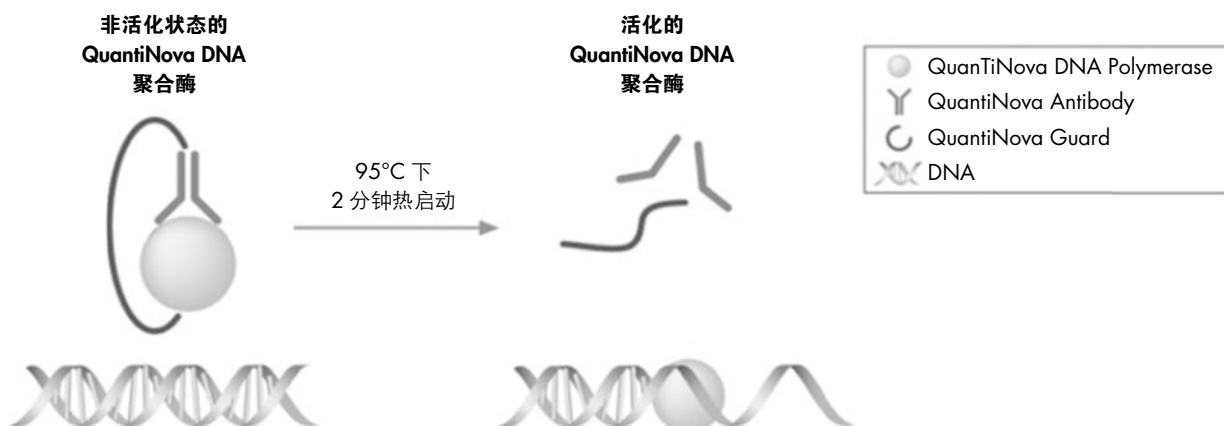


图 1. 新型 QuantiNova 热启动机制原理。通过 QuantiNova Antibody 和 QuantiNova Guard，使 QuantiNova DNA Polymerase 在热启动步骤之前保持非活性状态。

内置可视的颜色染料确保正确移液

QuantiNova SYBR Green PCR Kit 随附的预混液包含一种蓝色惰性染料，该染料不会干扰 real-time PCR，但是可以增加管和孔的可视性，而 QuantiNova Yellow Template Dilution Buffer 则含有一种黄色染料。将采用 QuantiNova Yellow Template Dilution Buffer 稀释的模板核酸添加到预混液中，溶液的颜色由蓝变绿，从而为正确移液提供清晰的指示。客户可根据实际情况选择使用 QuantiNova Yellow Template Dilution buffer。

QuantiNova SYBR Green PCR Buffer

QuantiNova SYBR Green PCR Buffer 专用于采用 SYBR Green I 进行的 real-time PCR。这种缓冲液能够缩短任何实时定量 PCR 仪的反应循环时间，使得退火 / 延伸的综合步骤只需 10 秒。此外，独创的成分使之可兼容 DNA 溶解条件，有助于缩短变性和退火 / 延伸时间。

该缓冲液同样也由 QIAGEN 独创的 PCR 缓冲液体系发展而来。它包含了 K^+ 和 NH_4^+ 平衡离子组合，可在每个 PCR 循环的退火阶段促进特异性结合（相对于非特异性结合）比例。这一设计实现了严格的引物退火条件，进而增加了 PCR 特异性。使用这种缓冲液时， Mg^{2+} 浓度只会轻微影响引物退火反应，因此无需对 Mg^{2+} 的浓度条件进行优化。

SYBR Green I

2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix 包含一种浓度经过优化的荧光性染料 SYBR Green I。SYBR Green 可与所有双链 DNA 分子结合，并在结合时发出荧光信号。2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix 可在 -20°C 下储存而不会损失 SYBR Green 荧光活性。SYBR Green I 的最大荧光激发和发射波长分别为 494 nm 和 521 nm，可与任何实时定量 PCR 仪兼容。

阴性参比染料

对于某些 PCR 仪，如果 real-time PCR 反应体系之中存在 ROX 阴性参比染料，即可补偿荧光检测结果中非 PCR 相关的数据波动。在 real-time PCR 反应过程中，来自 ROX 染料的荧光不仅不会发生变化，还可为 PCR 相关的荧光信号的标准化处理提供一个稳定的基准。因此，ROX 染料可以补偿由于轻微的反应体积变化或孔位置差异而引起的荧光检测结果差异。ROX 染料不会干扰 real-time PCR，因为它并不参与反应，且其发射光谱也与 SYBR Green I 不同。

Applied Biosystems 仪器必须使用 ROX 染料。QuantiNova SYBR Green PCR Kit 单独附带了一管 QN ROX Reference Dye。如果使用实时定量 PCR 仪并使用 ROX 作为阴性参比染料，可将其加入到 real-time PCR 反应体系之中。在需要高浓度 ROX 的仪器上使用时，应采用 1x real-time PCR 样品 1:10 稀释 QN ROX Reference Dye；在需要低浓度 ROX 的仪器上使用时，需采用 1x real-time PCR 样品 1:200 稀释 QN ROX Reference Dye。有关需要低浓度或高浓度的实时定量 PCR 仪的详情，请参阅表 1。此外，您也可以根据需要将 QN ROX Reference Dye 可添加到 2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix 中，以便长期储存（表 2）。相关详情请参阅第 11 页“向预混液中添加 ROX 染料”。

表 1. 需要低 / 高浓度 ROX 的实时定量 PCR 仪

高浓度 ROX (在 1x 反应体系中，1:10 稀释 QN ROX Reference Dye)	低浓度 ROX (在 1x 反应体系中，1:200 稀释 QN ROX Reference Dye)
ABI PRISM® 7000	Applied Biosystems 7500
Applied Biosystems 7300	Applied Biosystems ViiA™ 7
Applied Biosystems 7900	Applied Biosystems QuantStudio 12K Flex
Applied Biosystems StepOne™	
Applied Biosystems StepOne Plus	

向预混液中添加 ROX 染料

如果只会在 Applied Biosystems 的 PCR 仪上使用 QuantiNova SYBR Green PCR Kit，可以根据需要向 2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix 中加入 QN ROX Reference Dye，以便长期储存。如需了解各款 Applied Biosystems 仪器所需的 ROX 浓度信息，请参阅表 1。如需了解如何采用已添加高浓度 QN ROX Reference Dye 的预混液构建反应，请参阅第 21 页“附录 A：使用含有高浓度 ROX 的预混液构建反应”。

表 2. 向预混液中添加 QN ROX 染料

2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix 体积 (不含 QN ROX Reference Dye)	高 ROX 浓度 / 低 ROX 浓度 QN ROX Reference Dye 体积
1 ml	200/10 µl
1.7 ml	340/17 µl

用于实时、两步法 RT-PCR 的 cDNA 合成

采用 QuantiNova SYBR Green PCR Kit 定量 cDNA 靶标时首先必须将 RNA 反转录成 cDNA，然后取相应量的反转录产物，转移到进行 real-time PCR 的另一试管中。因为反转录和 real-time PCR 发生在两个不同的试管中，故被称为两步法实时定量 RT-PCR。

进行反转录时，我们推荐使用 QuantiTect Reverse Transcription Kit。该试剂盒采用快速、方便的操作流程，只需 20 分钟即可合成第一条链 cDNA 并去除基因组 DNA 污染。通过一种经过的 oligo-dT 和随机引物混合液，可以从 RNA 转录本之中的任何区域——甚至超长 mRNA 转录本的 5' 端区域——合成 cDNA。此过程的 cDNA 得率非常高，甚至可对两步法实时定量 RT-PCR 之中的低丰度转录本进行灵敏地检测。如需了解订购信息，请参阅第 25 页。

实验方案：Real-Time PCR 和两步法 RT-PCR

实验须知

- 务必要首先确定本实验方案的反应条件，即便是要使用之前建立的引物体系。QuantiNova SYBR Green PCR Kit 针对两步法反应方案应用而开发，变性步骤在 95°C 下进行，退火 / 延伸综合步骤在 60°C 下进行。该实验方案同样适用于 T_m 低于 60°C 的引物
- 为确保采用 SYBR Green 进行 real-time PCR 时具有最高效率，靶标的理想长度为 60–200 bp
- PCR 必须首先进行热启动步骤，即在 95°C 下孵育 2 分钟，激活 QuantiNova DNA Polymerase
- 对于 96 孔模块 PCR 仪，我们建议的反应物终体积为 20 µl
对于 384 孔模块 PCR 仪，我们建议的反应物终体积为 10 µl
- QuantiNova Yellow Template Dilution Buffer 中的染料可以跟踪 qPCR 过程中加样的样品。这种染料加入到蓝色的 SYBR Green PCR Master Mix 之中时，预混液颜色会从蓝色变为绿色，表明其已成功结合到模板中。您可以自行选择是否要加入这种缓冲液。此款缓冲液以 100x 浓度形式供货，使用时应（用水或 Tris 缓冲液）进行稀释，以便在样品之中实现 1X 的终浓度。为了制备各稀释度的模板（例如，为了绝对定量或测定 PCR 效率），使用时可以（用水或 Tris 缓冲液）稀释 100x 浓度成品，获得最终浓度为 1x 的 QuantiNova Yellow Template Dilution Buffer。该缓冲液不会影响样品稳定性和 qPCR 反应

操作步骤

1. 融解 2 x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix、QuantiNova Yellow Template Dilution Buffer、模板 gDNA 或 cDNA、引物、QN ROX Reference Dye（根据需要）以及 RNase-Free 水。混合各份溶液。根据表 3 制备反应混合液。由于存在热启动机制，构建反应或运行实时定量 PCR 仪时，不必将样品一直放在冰上。

表 3. 反应构建

组分	体积 / 反应		终浓度
	96 孔模块	384 孔模块	
2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix	10 µl	5 µl	1x
QN ROX Reference Dye (仅适用于 Applied Biosystems PCR 仪)	2 µl/0.1 µl*	1 µl/0.05 µl*	1x
引物 A [†]	可变	可变	0.7 µM
引物 B [†]	可变	可变	0.7 µM
RNase-Free 水	可变	可变	
模板 DNA 或 cDNA (第 4 步加入)	可变	可变	≤100 ng/ 次反应
总反应体积	20 µl	10 µl	

* 对应于 1:10 稀释度，适用于高 ROX 浓度 PCR 仪（即 ABI PRISM 7000、Applied Biosystems 7300、7900 和 StepOne Real-Time PCR Systems）；1:200 稀释度适用于低 ROX 浓度 PCR 仪（即 Applied Biosystems 7500 和 ViiA7realTime PCR 系统）。

[†] 如果使用 QuantiTect Primer Assays，则反应物终浓度应为 1x。

2. 充分混匀反应混合物，并取适当体积加入 PCR 管或反应板中。
3. 将模板 gDNA 或 cDNA (≤100 ng/ 次反应) 加入含有反应混合液的各个 PCR 管或孔中。
对于两步法 RT-PCR，加入的 cDNA (来自未稀释的反转录反应物) 体积不能超过 PCR 终体积的 10%。
4. 根据表 4 中列出的程序设置实时定量 PCR 仪。
应在进行退火 / 延伸步骤时收集数据。

表 4. 实时定量 PCR 仪条件

步骤	时间	温度	升降温速率	补充说明
PCR 初始活化步骤	2 min	95°C	最大 / 快速模式	QuantiNova DNA Polymerase 经此加热步骤活化
两步循环变性	5 s	95°C	最大 / 快速模式	
退火 / 延伸步骤	10 s*	60°C	最大 / 快速模式	收集荧光数据
循环次数 35–40 [†]				循环数取决于模板 DNA 的量
熔解曲线分析 [§]				

* 如果 PCR 仪无法在这么短的时间内完成数据采集，则以仪器采集数据所需的最短时间为准。

[†] 该温度也同样适用于 QuantiTect Primer Assays 以及所有 T_m 低于 60°C 的引物集。

[‡] 循环数取决于模板 DNA 的量。

[§] 熔解曲线分析是实时定量 PCR 仪软件内置的一项分析步骤。进行此分析时，须遵守仪器提供的说明。

5. 将 PCR 管或反应板放置在实时循环仪上并启动循环程序。
6. 对 PCR 产物 (s) 进行熔解曲线分析。
此项分析功能已内置于实时定量 PCR 仪的软件中，我们强烈建议您定期进行此项分析以验证 PCR 产物的特异性和具体成分。
可选：通过琼脂糖凝胶电泳验证 PCR 产物的特异性。

故障排除指南

意见及建议

PCR 反应无信号或延迟检测到一个或多个信号

- | | |
|----------------------------------|--|
| a) 循环条件不当 | 必须按照实验方案规定设置最佳的起始循环条件。确保循环条件中包含 QuantiNova DNA Polymerase 活化 (95°C 下, 持续 2 分钟) 这一起始步骤, 且变性和退火 / 延伸的时间符合实验方案规定。 |
| b) QuantiNova DNA Polymerase 未激活 | 确保包括 QuantiNova DNA Polymerase 活化步骤 (95°C 下, 持续 2 分钟) 在内的循环程序均符合实验方案规定。 |
| c) 移液操作失误或试剂缺失 | 检查试剂(包括引物和模板核酸)的浓度和存储条件。关于如何评价引物浓度的详情, 请参阅附录附录 B (第 22 页)。再次进行 PCR。请使用随附的 QuantiNova Yellow Template Dilution Buffer, 以避免在反应构建过程中出错。 |
| d) 检测步骤错误或未进行检测步骤 | 确定在进行引物退火 / 延伸步骤过程中, 已进行荧光检测。 |
| e) 引物浓度不理想 | 请使用最佳的引物浓度 0.7µM。如使用 10x QuantiTect Primer Assay, 则反应体系的终浓度应为 1x。
请使用分光光度测定法确定引物浓度 (参见第 22 页附录 B)。 |
| f) 起始模板有误 | 请检查起始模板的浓度、存储条件和质量。
如有必要, 采用储液重新制定各个稀释度的模板核酸稀释液。
使用新的模板稀释液再次进行 PCR 操作。 |
| g) 起始模板数量不足 | 如条件允许, 增加模板量。
确保样品中含有拷贝数足量的靶标核酸。 |
| h) 循环次数不足 | 增加循环次数。 |
| i) 反应体积过大 | 对于 96 孔模板 PCR 仪, 建议最终反应体积为 20 µl;
对于 384 孔模板 PCR 仪, 建议最终反应体积为 10 µl |
| j) PCR 产物长度过长 | 为得到最优结果, PCR 产物长度应控制在 60-200 bp 之间。 |
| k) 引物设计不理想 | 通过熔融曲线分析方法或凝胶电泳检测 PCR 产物。如无法检测到特定的 PCR 产物, 请参考引物设计指南 (详见第 22 页附录 B)。也可使用 QuantiTect Primer Assays 进行检测, 后者为针对 real-time RT-PCR 预先设计的引物集合 (详见第 25 页订购信息)。 |
| l) 无法启动检测 | 检查是否在循环程序中启动了荧光检测。 |
| m) 引物降解 | 使用变性聚丙烯酰胺凝胶检测引物是否有可能降解。 |
| n) 仅限 RT-PCR:
添加的反转录产物体积过多 | 在 PCR 中添加过多的反转录产物可能会降低扩增效率。通常情况下, 添加的未稀释反转录反应液体积不应超过最终 PCR 反应液体积的 10%。如果需要使用大量的反转录产物作为反应模板, 需添加允许范围内的最大体积。 |

仅限 Applied Biosystems、Bio-Rad®、QIAGEN 和 Agilent® 系统:

- | | |
|----------------|--|
| 所选的检测通道或过滤参数错误 | 确保启动了正确的检测通道或已针对 SYBR Green I 选择对应的过滤参数。 |
|----------------|--|

意见及建议

生成引物二聚体或非特异性 PCR 产物

- | | |
|-------------------------|---|
| a) 调整了 Mg^{2+} 离子浓度 | 请勿调整 2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix 中的 Mg^{2+} 浓度。 |
| b) 引物设计不理想 | 通过熔融曲线分析或凝胶电泳检测 PCR 产物。如无法检测到特定的 PCR 产物，请参考引物设计指南（详见第 22 页附录 B）。也可使用 QuantiTect Primer Assays 进行检测，后者为针对 real-time RT-PCR 预先设计的引物集合（详见第 25 页订购信息）。 |
| c) PCR 产物长度过长 | 为得到最优结果，PCR 产物长度应控制在 60–200 bp 之间，并最大不超过 300 bp。 |
| d) 引物降解 | 使用变性聚丙烯酰胺凝胶检测引物是否有可能降解。 |
| e) RNA 样品中含有基因组 DNA 污染物 | 设计跨外显子的引物，确保只有靶标的 cDNA 才能被扩增和检测。也可使用预先设计的 QuantiTect Primer Assays，避免基因组 DNA 扩增（详见第 25 页订购信息）。使用 QuantiTect Reverse Transcription Kit 进行反转录操作，此步骤可以在去除全部的基因组 DNA 的同时，合成 cDNA。
此外，您还可使用脱氧核糖核酸酶处理 RNA 样本，去除污染物基因组 DNA。 |

增强荧光量或“无模板对照”的 C_T 值

- | | |
|----------------|---------------------------------|
| a) 试剂污染 | 丢弃所有实验试剂（例如预混液和引物）。使用新试剂再次进行实验。 |
| b) 反应构建过程中引入污染 | 在反应构建过程中采取妥善的预防措施，例如使用气溶胶屏障吸头。 |

“无转录”对照的荧光强度过高

- | | |
|----------------------|---|
| RNA 样品中含有基因组 DNA 污染物 | 设计跨外显子边界的引物，确保只有靶 cDNA 才能被扩增和检测。
使用 QuantiTect Reverse Transcription Kit 进行反转录操作，此步骤可以在去除全部的基因组 DNA 的同时，合成 cDNA。
此外，您还可使用 DNase 处理 RNA 样本，去除基因组 DNA 污染。 |
|----------------------|---|

荧光强度变化

- | | |
|--------------------|---------------------------|
| a) 实时定量 PCR 仪引入污染 | 根据制造商提供的说明净化实时定量 PCR 仪。 |
| b) 无法再校准实时定量 PCR 仪 | 根据制造商提供的说明重新校准实时定量 PCR 仪。 |

适用于所有 PCR 仪系统：

- | | |
|-------------------------|---|
| 针对高度表达的靶标使用高模板量时，出现曲线波动 | 在分析设置中，降低后台计算的循环次数（如果实时定量 PCR 仪允许此操作）或者减少模板量。 |
|-------------------------|---|

仅限 Applied Biosystems 仪器：

- | | |
|------------------------|--|
| ΔRn 值较出乎意料的高或低 | QN ROX Reference Dye 浓度有误。请针对您的 PCR 仪选择合适的 ROX 浓度，选择标准请见第 11 页表 1。 |
|------------------------|--|

附录 A：使用含高浓度 ROX 的预混液构建反应

注意：本附录仅适用于使用含高浓度 ROX 的预混液进行反应构建的情况。如果使用含有低浓度 ROX 的预混液（可忽略加入的 ROX 体积），请遵照第 14 页表 3 中规定的标准反应构建步骤。

表 5 反应构建

成分	反应体积		最终的浓度
	96 孔模块	384 孔模块	
2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix (含高浓度 ROX)	12 μ l	6.0 μ l	1x
引物 A	可变	可变	0.7 μ M
引物 B	可变	可变	0.7 μ M
模板 DNA 或 cDNA	可变	可变	≤ 100 ng/ 次反应
RNase-Free 水	可变	可变	
总反应液体积	20 μ l	10 μ l	

订购信息

产品	成分	货号
QuantiNova SYBR Green PCR Kit (100)	可进行 100 次 25 µl 反应: 1 ml 2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix, 500 µl QuantiNova Yellow Template Dilution Buffer, 250 µl QN ROX Reference Dye, 1.9 ml RNase-Free Water	208052
QuantiNova SYBR Green PCR Kit (500)	可进行 500 次 25 µl 反应: 3 x 1.7 ml 2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix, 500 µl QuantiNova Yellow Template Dilution Buffer, 1 ml QN ROX Reference Dye, 1.9 ml RNase-Free Water	208054
QuantiNova SYBR Green PCR Kit (2500)	可进行 2500 次 25 µl 反应: 15 x 1.7 ml 2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix, 5 x 500 µl QuantiNova Yellow Template Dilution Buffer, 5 X 1 ml QN ROX Reference Dye, 5 x 1.9 ml RNase-Free Water	208056
相关产品		
QuantiTect Primer Assays: 采用 SYBR Green 检测试剂进行实时定量 RT-PCR (搜索和订购请访问 www.qiagen.com/GeneGlobe)		
QuantiTect Primer Assay (200)	可进行 200 次 50 µl 或 400 次 25 µl 反应: 10x QuantiTect Primer Assay (冻干)	Varies
QuantiTect Reverse Transcription Kit: 用于为实时两步法 RT-PCR 快速合成 cDNA		
QuantiTect Reverse Transcription Kit (50)	可进行 50 次 20 µl 反应: gDNA Wipeout Buffer, Quantiscript® Reverse Transcriptase, Quantiscript RT Buffer, RT Primer Mix, 以及 RNase- Free Water	205311
QuantiTect Reverse Transcription Kit (200)	可进行 200 次 20 µl 反应: gDNA Wipeout Buffer, Quantiscript Reverse Transcriptase, Quantiscript RT Buffer, RT Primer Mix, 以及 RNase-Free Water	205313
QuantiNova Probe PCR Kit: 用于高灵敏度、特异、超快速的探针法 real-time PCR		
QuantiNova Probe PCR Kit (100)	可进行 100 次 25 µl 反应: 1 ml 2x QuantiNova Probe PCR Master Mix, 500 µl QuantiNova Yellow Template Dilution Buffer, 250 µl QN ROX Reference Dye, 1.9 ml RNase-Free Water	208252
QuantiNova Probe PCR Kit (500)	可进行 500 次 25 µl 反应: 3 x 1.7 ml 2x QuantiNova Probe PCR Master Mix, 500 µl QuantiNova Yellow Template Dilution Buffer, 1 ml QN ROX Reference Dye, 1.9 ml RNase-Free Water	208254
QuantiNova Probe PCR Kit (2500)	可进行 2500 次 25 µl 反应: 15 x 1.7 ml 2x QuantiNova Probe PCR Master Mix, 5 x 500 µl QuantiNova Yellow Template Dilution Buffer, 5 X 1 ml QN ROX Reference Dye, 5 x 1.9 ml RNase-Free Water	208256

Trademarks: QIAGEN®, AllPrep®, DNeasy®, GeneGlobe®, Oligotex®, QuantiTect®, QuantiNova™, QuantiScript®, RNeasy®, TurboCapture® (QIAGEN Group); Agilent® (Agilent Technologies, Inc.); ABI PRISM®, Applied Biosystems®, ROX™, StepOne™, SYBR®, ViiA™ (Life Technologies Corporation); Bio-Rad® (Bio-Rad Laboratories, Inc.); BLAST® (National Library of Medicine).

此产品的使用受到以下一项或多项美国专利及美国境外的对应专利主张保护：5,994,056 和 6,171,785。购买本产品即表示获得了前述专利主张下有限、不可转让、诉讼豁免的许可，可仅出于购买者自己内部的研究目的使用此产品。本条款未通过明示、暗示或禁止反言形式授予购买者任何专利主张下的权利或开展任何形式的商业服务的权利，包括但不限于出于经济利益或其他商业考虑报告购买者的活动结果。本产品仅用于研究用途。Roche 专利涵盖的诊断用途需另行向 Roche 购买。如需了解购买许可方面的更多信息，可联系 Applied Biosystems 许可主管（850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA）。

购买此产品即表示获得了一项有关使用所购数量产品的有限、不可转让的许可，可出于购买者自身的研究目的使用 Applied Biosystems 的专利阴性参比方法。本条款未通过明示、暗示或禁止反言形式授予购买者任何专利主张下的权利或开展任何形式的商业服务的权利，包括但不限于出于经济利益或其他商业考虑报告购买者的活动结果。本产品仅用于研究用途。有关获取其他权利的信息，请联系 outlicensing@lifetech.com 或 Life Technologies 对外许可部（5791 Van Allen Way, Carlsbad, California 92008）。

QuantiNova™ SYBR Green PCR Kit 受限许可协议

任何本产品的购买者或用户使用本产品即表示其同意以下条款：

1. 本产品仅可依照本产品随附的实验方案及本手册结合本试剂盒所含试剂来使用。除非本产品附带的实验方案、本手册或 www.qiagen.com 网站提供的附加实验方案另有规定，QIAGEN 未授权在其任何知识产权下将本试剂盒所含成分与其他试剂混用或合并的许可。部分此类附加实验方案已向 QIAGEN 用户提供。这类实验方案未经 QIAGEN 全面检测或优化，故 QIAGEN 既不会提供相关担保，也不会保证其未侵犯第三方的权利。
2. 除明确声明的许可外，QIAGEN 不保证本试剂盒和 / 或其用途是否侵犯第三方权利。
3. 本试剂盒及其试剂授予属于一次性使用许可，不得重复使用、改造或转售。
4. QIAGEN 特此声明，除其明确声明的内容外，未明示或暗示授予任何其他许可。
5. 凡购买和使用本试剂盒即表示不会安排或准许任何人采取任何可能导致或促成任何违反上述禁止行为的措施。QIAGEN 有权向任何法院申请强制执行本有限许可协议规定的禁止行为，并在任何强制执行本有限许可协议或试剂盒及 / 或其成分相关的任何知识产权的诉讼过程中要求被告赔偿任何调查取证和法院费用，包括律师费。

有关最新的许可证条款，请访问 www.qiagen.com。

© 2013 QIAGEN, all rights reserved.

关于最新的许可信息和产品特定的免责声明，请阅读相关的 QIAGEN 试剂盒手册或操作指南。QIAGEN 试剂盒手册和操作指南可在 www.qiagen.com 下载，或向 QIAGEN 技术服务或当地的经销商索取。

要不要加条码

凯杰企业管理（上海）有限公司

电话：021-3865 3865

技术支持热线：800-988-0325 400-880-0325

TechService-CN@qiagen.com

www.qiagen.com



LS201601002