

Product Manual

产品说明书

货号

PR01021

产品介绍

SYBR Green I qPCR 染料 (10,000×in DMSO)效能等同于 SYBR Green I。

SYBR Green I qPCR 染料 (10,000×in DMSO)是一种结合于 dsDNA 双螺旋小沟区域的具有绿色发射光的荧光染料。SYBR Green I qPCR 染料 (10,000×in DMSO)与 dsDNA 结合后荧光信号会增强 800~1000 倍，是一种常用的 qPCR 荧光染料。该可应用于基因表达差异分析，基因芯片等。

应用范围

实时定量 PCR 参比染料

储运条件

4 °C 避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

产品特点

高信噪比：荧光亮度高，背景极低；

批间差小：产品为公司自研，批间差控制的好；

使用方便：提供多种浓度的 SYBR Green I qPCR 染料 (10,000×in DMSO)，选择灵活方便。

注意事项

- 1.SYBR Green I qPCR 染料 (10,000×in DMSO)的使用浓度是保证荧光定量 PCR 实验成功的关键因素。染料浓度过低会使荧光信号变化降低，导致低拷贝的样品可能无法检出，而在高浓度时又会抑制 PCR 反应。所以一般在使用 SYBR Green I qPCR 染料 (10,000×in DMSO)时应根据实际情况优化使用浓度，反应的终浓度为 $1 \times$ 到 $0.2 \times$ 之间。
- 2.SYBR Green I qPCR 染料 (10,000×in DMSO)随着时间的推移可能会在光照下褪色，从而导致敏感性下降，因此在存储和使用过程中应避光，原液建议分装成小管冻存，保存于 -20°C ，短期可以 4°C 保存。
- 3.本产品仅限于科研，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。
- 4.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

操作步骤

- 1.用 DMSO 或无菌超纯水将 $10,000 \times$ 染料进行稀释，如稀释 500 倍得到 $20 \times$ 染料，用于后续实验。
- 2.建立如下实验体系（仅供参考）

名称	体积
10 × 的无 Mg ²⁺ 聚合酶缓冲液	5 μL
50 mM MgCl ₂	2.5 μL
2 mM dNTP	5 μL
20 × SYBR Green I qPCR 染料 (10,000×in DMSO)	2.5 μL
Taq DNA polymerase	1~5 units
F, R Primers	各 0.1~0.5 μM
模板 DNA	适量
无菌超纯水	补足至 50 μL

(1) 提高 Mg²⁺ 浓度可以降低 SYBR Green I qPCR 染料 (10,000×in DMSO) 对 PCR 反应的抑制作用。我们建议在用 SYBR Green I qPCR 染料 (10,000×in DMSO) 进行荧光 PCR 反应时, Mg²⁺ 浓度比无 SYBR Green I qPCR 染料 (10,000×in DMSO)的普通 PCR 反应高出 0.5~3 mM。

(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%。

3.执行实时定量 PCR 程序, 采集荧光信号

程序	温度	时间	循环
预变性	95 °C	2 min	1
变性	95 °C	5 s	45
退火	50~60 °C	5 s	
延伸	72 °C	25 s	

注:在该步骤进行荧光信号采集设置:请按照仪器使用说明书要求进行实验程序设置, 几种常见仪器的时间设定如下:30 sec 以上: Applied Biosystems: StepOne, StepOne Plus, 7500 Fast; Roche Applied Science: LightCycler 480; Bio-Rad: CFX96; 31sec 以上: Applied Biosystems: 7300; 34 sec 以上: Applied Biosystems: 7500。

4.分析数据。