

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01014

产品介绍

SYBR Green 是一种结合于所有 dsDNA 双螺旋小沟区域的具有绿色激发波长的染料。SYBR Green 与 dsDNA 结合荧光信号会增强 800~1000 倍，是一种常用的 qPCR 荧光染料。具有高灵敏度，信噪比高等优势，可应用于基因表达差异分析，基因芯片等。

通用预混型 SYBR Green qPCR Master Mix (化学法) 为一款应用于 qPCR 基因表达分析的明星产品，本产品试剂稳定性、特异性、高 GC 含量序列扩增能力及抑制能力等方面都有了很大提升，更关键的是优化了产品的使用步骤。

该试剂将特殊的参比染料预混进试剂盒，适用于所有 qPCR 仪器，无需在不同的仪器上调整 ROX 的浓度，只需在配制反应体系中加入引物和模板即可进行扩增，方便使用。

应用范围

QPCR 定量

储运条件

20 °C 避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

产品特点

适用性广：预混参比染料，适用于市面上所有仪器；

特异性强：灵敏度高，熔解曲线无双峰，拥有良好的特异性；

信噪比高：SYBR Green 荧光值高、荧光信号强。

注意事项

1.使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。

2.1 × Tyramide Amplification Buffer 首次使用后，建议小量分装，-20 °C 保存，避免反复冻融。

3.与荧光二抗相比，Tyramide 试剂盒显示出更高的灵敏度和更强的信号，因此，实验时一抗的使用浓度较低，建议梯度设置一抗浓度以找到最佳浓度。

自备材料

1.耗材

96 孔 PCR 板

2.试剂

(1) ddH₂O (2) 模板 (3) 引物

3.仪器

QPCR 仪器

操作步骤

1.取出 2 × 通用预混型 SYBR Green qPCR Master Mix (化学法)、引物、模板和 RNase-free 水，恢复至室温，轻轻涡旋，充分混匀。

2.按照如下体系制备反应混合液

反应组分	20 μ L 反应体系	终浓度
2 $\times$ 通用预混型 SYBR Green qPCR Master Mix (化学法)	10 μ L	1 $\times$
F, R 引物	适量	0.2~1 μ M
模板	适量	——
H2O	补足至 20 μ L	N/A

注: (1) 模板浓度: 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 反应体系总体积的 10%。

(2) PCR 引物的终浓度通常为 0.6 μ M, 可以得到较好的结果, 但不同引物请自行摸索最佳使用浓度。

3.轻轻涡旋混匀反应混合液, 转移固定体积至 PCR 管。

4.您可以根据扩增模板的性质和仪器的功能, 选择以下两个程序之一进行实验。

(1) 两步快速扩增法

这个程序适用于大多数引物 T_m 为 60 $^{\circ}$ C 的扩增, 溶解曲线遵循您所用仪器提供的标准流程执行。

程序	温度	时间	循环
预变性	95 $^{\circ}$ C	120 s	1
变性	95 $^{\circ}$ C	5 s	40
退火	60 $^{\circ}$ C	30 s	

(2) 三步扩增法

这个程序适用于扩增温度比退火温度高的实验。例如, 如果扩增片段有相对较长的引物, 容易产生非特异性的扩增, 在更高的温度下进行延伸可以降低非特异性扩增。溶解曲线遵循您所用仪器提供的标准流程执行。

程序	温度	时间	循环
预变性	95 $^{\circ}$ C	120 s	1
变性	95 $^{\circ}$ C	5 s	40
退火	60 $^{\circ}$ C	15 s	
延伸	72 $^{\circ}$ C	30 s	

5.将待检样品, 放入 PCR 仪, 运行 PCR 程序。

6.分析实验数据。