

产品说明书

产品名称: SYBR Green I 10,000× in DMSO (PCR 级)

产品货号: BN12018

产品规格: 0.5 mL

应用范围: 实时定量 PCR

储存条件

本产品 4 °C 避光保存, 推荐条件下可储存 1 年。使用前, 将产品室温下解冻, 并轻轻涡旋混匀, 解冻后所有实验应在冰上操作。该产品避免反复冻融。

产品介绍

SYBR Green I 是一种结合于 dsDNA 双螺旋小沟区域的具有绿色激发光的荧光染料。SYBR Green I 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。该染料经济实惠、使用方便, 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。

使用方法:

1. 用 DMSO 或 dH₂O 将 10,000×染料进行稀释, 如稀释 500 倍即为 20×染料, 用于后续实验。

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 | 2.5 μL |
| Taq DNA polymerase | 1-5 units |
| F, R Primers | 各 0.1-0.5 μM |
| 模板 DNA | 适量 |

| | |
|-------------------|----------------------------|
| dH ₂ O | to a final volume of 50 μL |
|-------------------|----------------------------|

注: 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. 执行实时定量 PCR 程序, 采集荧光信号。

| 程序 | 温度 | 时间 | 循环 |
|-----|----------|-------|----|
| 酶激活 | 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 | |

3. 分析数据

注意事项

1. SYBR Green I 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 染料时应根据实际情况优化使用浓度, 反应的终浓度为 1×到 0.2×之间。

2. 提高 Mg²⁺浓度可以降低 SYBR Green I 对 PCR 反应的抑制作用。我们建议在用 SYBR Green I 进行荧光 PCR 反应时, Mg²⁺浓度比无 SYBR Green I 的普通 PCR 反应高出 0.5~3 mM。

3. 为了您的健康, 请穿实验服并戴一次性手套进行操作。