



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

2×SYBRGreenPCRMastermix

保存温度: -20℃ 保存, 有效期 12 个月。

试剂组成:

2×SYBR Green PCRmix 含有 PCR Buffer、MgCl₂、dNTPs、HS Taq DNA Polymerase、SYBR Green I、稳定剂等成分。

单独带有两只参比染料 ROX I、ROX II。

产品简介:

2×SYBR Green PCRmix 是采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 Real Time PCR 的专用试剂。含有常温下完全封闭 Taq 酶活性的化学修饰法热启动 HS Taq DNA Polymerase, 能够有效抑制低温条件下引物非特异性退火或者引物二聚体引起的非特异性扩增, 提高扩增反应的特异性。本试剂经过特殊配制, 采用优化配方的 qPCR 专用 Buffer, 大大提高了 qPCR 反应的扩增效率和检测灵敏度, 可以在较宽的定量区域内得到良好的标准曲线, 准确进行定量。本试剂与多数厂家的荧光定量 PCR 仪兼容, 如 Applied Biosystems、Eppendorf、Bio-Rad 和 Roche 等。

ROX Reference Dye II (100×) 参比染料, 适用于 ABI 7500, 7500 Fast, Q6, ViiA™7, Quant Studio 6/7Flex; Stratagene MX4000, MX3005, MX3000; Corbett Rotor Gene 3000 以及其它需要低浓度 ROX 机型。用于消除信号本底以及校正孔与孔之间产生的荧光信号误差。

ROX Reference Dye I (50×) 参比染料, 适用于 Applied Biosystems: 5700, 7000, 7300, 7700, 7900, 7900HT, 7900HT Fast; StepOne™, StepOne Plus™。

不使用 ROX Reference Dye 的有 Bio-Rad CFX96™, CFX384™, iCycler iQ™, iQ™ 5, MyiQ™, Opticon®, Opticon 2, Chromo4™; MiniOpticon™, Cepheid SmartCycler®; Eppendorf Mastercycler® eprealplex, realplex 2s; Illumina Eco™ qPCR; Qiagen/Corbett Rotor-Gene® Q, Rotor-Gene® 3000, Rotor-Gene® 6000; Roche: LightCycler® 480, 96, Nano, 1.5/2.0**; Thermo Scientific PikoReal Cycler。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyyssw@sina.com

试剂原理:

本产品利用化学修饰热启动酶 HS Taq DNA polymerase 进行 qPCR 扩增反应, 通过扩增产物嵌合 SYBR Green I 而激发的荧光信号强度进行检测。

1、PCR

PCR 法是以微量 DNA 进行目的片段扩增的方法。通过 DNA 链的热变性、引物退火、DNA 聚合酶作用下引物的延伸三个步骤循环往复, 可在短时间内扩增大量 DNA 片段。

2、荧光检出

SYBR Green I 是一种结合于小沟中的双链 DNA 结合染料。与双链 DNA 结合后, 其荧光大大增强, 最大吸收波长约为 497nm, 发射波长最大约为 520nm。

SYBR Green I 可以与所有的双链 DNA 相结合, 无需使用探针, 即可实现检测, 通用性好, 且灵敏度很高。但是, 由于 SYBR Green I 与所有的双链 DNA 相结合, 因此由引物二聚体、单链二级结构以及错误的扩增产物引起的假阳性会影响定量的精确性。在定量仪器检测过程中, 可以通过测量升高温度后荧光的变化, 由解链曲线来分析产物的均一性, 从而区分产物的融解峰温度而区分特异与非特异的产物。

操作步骤:

反应条件:

1、两步法

热启动: 95°C 3 分钟;
变 性: 95°C 10~20 秒;
退火/延伸: 60°C 20~60 秒。 } 35~45个循环

融解曲线分析。

2、三步法

热启动: 95°C 3 分钟;
变 性: 95°C 10~20 秒;
退 火: 56-64°C 10~30 秒;
延 伸: 72°C 10~60 秒。 } 35~45个循环

融解曲线分析。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

对于 Roche LightCycler480, 热启动时间应采用 10min, ABI7500 也可以采用 5min 热启动。

qPCR 反应体系配制:

试剂	25 μ l 体系	50 μ l 体系	终浓度
2 \times SYBR Green PCRMix	12.5 μ l	25 μ l	1 \times
Primer 1 (10 μ M)	0.5-2.5 μ l	1-5 μ l	0.2~1.0 μ M
Primer 2 (10 μ M)	0.5-2.5 μ l	1-5 μ l	0.2~1.0 μ M
Template DNA	5 μ l	10 μ l	-
ddH ₂ O	-	-	-
Total volume	25 μ l	50 μ l	

ROX Reference Dye II (100 \times) 使用方法 (仅供参考): 50 μ l 的反应体系里加入 0.5 μ l 的 ROX Reference Dye II (100 \times)。

ROX Reference Dye I (50 \times) 使用方法 (仅供参考): 50 μ l 的反应体系里加入 1 μ l 的 ROX Reference Dye I (50 \times)。

注意事项:

1. 2 \times SYBR Green PCRMix 经过特殊配制, 采用化学修饰热启动酶, 具有更高特异性;
2. 对于退火温度较低的引物或超过 200bp 长片段扩增建议采用三步法;
3. 扩增前后要使用专用的区域和移液器, 戴手套操作并经常更换, PCR 反应完成后切勿打开反应管。以最大限度的减少 PCR 产物对样品的污染。