

MesGen™ Premix (SYBR Green I) 荧光定量预混试剂

Cat.No.MRT4450

MESGEN[™]
INNOVATION BIOTECHNOLOGY

产品简介

MesGen™ Premix (SYBR Green I) 是实时定量 PCR 扩增所需的预混和溶液, 是采用 SYBR Green I 荧光染料法进行 Real-Time PCR 的专用试剂。本 SYBR Green Mix 由经化学修饰的 Taq DNA 聚合酶、dNTP 混合物、最佳浓度的 SYBR Green 及经优化后的缓冲液等扩增必需组分 (模板与引物除外) 所组成的 2×浓度混合试剂。SYBR Green 法的基本原理是 SYBR Green 能结合到 DNA 双螺旋的小沟。处于溶解状态的 SYBR Green 染料未结合双链 DNA 时显示低荧光强度, 一旦结合到双链 DNA 之后荧光信号会明显增强, 所以可通过检测反应体系中的 SYBR Green 荧光强度, 达到检测 PCR 产物扩增量的目的。PCR 反应时生成双链 DNA, 且随着 PCR 反应的进行, 双链 DNA 数量指数级增加, SYBR Green 与双链 DNA 结合发出荧光强度也随着 DNA 数量的增加而增强, 通过检测 PCR 反应液中的荧光信号强度, 可以对目的基因进行准确定量, 同时 SYBR Green 法还可以通过溶解曲线分析测定扩增的目的 DNA 片段的溶解温度从而检测扩增的特异性。本产品中含有特殊的 Rox Reference Dye, 适用于所有 qPCR 仪器, 无需在不同仪器上调整 ROX 的浓度。

规格与组成

产品货号	产品组成	20μl×500 rxn	20μl×2500 rxn
MAR4480	SYBR Green Mix (2x)	4×1.25ml	20×1.25ml
适用机型			
Bio-Rad CFX96™, CFX384™, iCycler iQ™, iQ™ 5, MyiQ™, MiniOpticon™, Opticon®, Opticon 2, Chromo4™; Cepheid SmartCycler®; Eppendorf Mastercycler®ep realplex, realplex 2s; Illumina Eco qPCR; Qiagen/Corbett Rotor-Gene® Q, Rotor-Gene® 3000, Rotor-Gene® 6000; Roche Applied Science LightCycler™ 480; Thermo Scientific PikoReal Cycler; ABI 5700, 7000, 7300, 7700, 7900, 7900HT, 7900HT Fast; StepOne™, StepOnePlus™; ABI 7500, 7500 Fast, ViiA™7; Stratagene MX4000™, MX3005P™, MX3000P™			

储存条件

在使用前推荐-20℃避光保存, 在使用后推荐 4℃避光保存, 避免反复冻融。

注意事项

- 1) 本品尽量避免反复冻融, 以免酶活下降。如每次使用量较少, 推荐小份分装使用。
- 2) 使用前请上下颠倒以混匀 Mix, 请勿 vortex 以免产生过多气泡引起反应体系体积失准, 进而影响定量结果。Mix 经混匀后轻微离心后即可使用。使用过程中吹打要轻, 如果操作不慎 Mix 起泡, 需再次离心方可使用。
- 3) 由于本品中含有荧光染料 SYBR® Green I, 因此无论保存 Mix 还是配制反应体系时都应该尽量避免强光照射。
- 4) 由于本品检测灵敏度极高, 即使空气中微量的 DNA 气溶胶都可以引起污染, 进而导致实验失败。因此反应体系配制时请于超净工作台内进行, 配制过程中请使用干净的灭菌枪头、反应管, 条件容许的实验室推荐使用专用的取液枪, 避免污染。推荐使用带滤芯的枪头。

MESGEN[™]
INNOVATION BIOTECHNOLOGY

MesGen Biotech

website : www.MesGenbio.com

E-mail : sales@mesgenbio.com

操作方法

1. qPCR反应体系配制

组成成分	50ul 体系	25ul 体系	20ul 体系	终浓度
2×SYBR Green Mix	25μl	12.5μl	10μl	1×
正向引物 (10 μM)	1μl	0.5μl	0.4μl	200-400nM *
反向引物 (10 μM)	1μl	0.5μl	0.4μl	200-400nM *
cDNA 模板	——	——	——	1-100ng
RNase-Free ddH ₂ O	至 50μl	至 25μl	至 20μl	——

2. 反应程序设置

一般采用两步法程序进行反应，即退火/延伸设置在60°C。也可以用三步法进行反应。注意：Taq DNA Polymerase需要热激活处理以恢复酶活，请至少设置PCR反应预变性条件为95°C 5分钟。如果模板的GC含量较高，可将预变性时间延长至10分钟。

两步法标准程序：

反应		温度	时间	循环数
荧光定量 PCR	预变性	95°C	5 min	1
	变性	95°C	10 sec	40
	延伸	60°C	30 sec	
融解曲线分析		95°C	15 sec	1
		60°C	60 sec	
		95°C	15 sec	

延伸时间请根据您使用的Real Time PCR仪所需要的数据采集最短时间限制自行调整：使用ABI 7700和7900HT时至少30秒；使用ABI 7000和7300时至少31秒；使用ABI 7500时至少34秒；使用ABI StepOne Plus™时至少10秒。

3. 扩增曲线/融解曲线

反应结束后确认扩增曲线及融解曲线，进行标准曲线制作等。扩增产物特异与否也可用琼脂糖凝胶电泳进行确认。



For Research Use Only. Not Intended for Diagnostic or Therapeutic Use.