



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301 或 800-8283301
 订货 e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

SYBR Green I (10,000X in DMSO, qPCR Grade)

产品编号	产品名称	包装
D7405-0.1ml	SYBR Green I (10,000X in DMSO, qPCR Grade)	0.1ml
D7405-0.5ml	SYBR Green I (10,000X in DMSO, qPCR Grade)	0.5ml
D7405-2ml	SYBR Green I (10,000X in DMSO, qPCR Grade)	2ml

产品简介:

- 碧云天生产的SYBR Green I (10,000X in DMSO, qPCR Grade)是一种使用便捷、高灵敏度、高品质的核酸荧光染料,适用于qPCR、等温扩增或基因芯片等的荧光染色定量,也可以用于DNA或RNA进行琼脂糖凝胶或聚丙烯酰胺凝胶电泳时的荧光染色。
- qPCR (Quantitative PCR)即定量PCR,也称实时荧光定量PCR或实时定量PCR (Real-time quantitative PCR)、实时PCR (Real-time PCR),是一种在DNA扩增反应过程中,以荧光定量测定每个聚合酶链式反应(PCR)循环后产物总量的方法。qPCR常用的两种方法是SYBR Green等荧光染料法和探针法。SYBR Green等荧光染料法是使用与DNA结合的荧光染料SYBR Green等以检测PCR过程中积累的PCR扩增产物[1,2]。
- SYBR Green I, CAS号为163795-75-3,是一种结合于双链DNA (Double-strand DNA, dsDNA)双螺旋小沟区域的绿色荧光染料,SYBR Green I在游离状态下的荧光比较微弱,一旦与双链DNA结合后,其荧光会大大增强[3],其最大吸收波长约为497nm,最大发射波长约为520nm。荧光强度与体系中双链的浓度成正比,荧光信号的增加与PCR产物的增加完全同步。这样通过检测荧光强弱就可以定量检测PCR过程中扩增产生的双链DNA的数量。SYBR Green I也可以和双链RNA (Double-strand RNA, dsRNA)有较强的结合,和单链RNA或单链DNA的结合力较弱。长度较长的单链RNA通常比较容易形成二级结构,其中会包含双链RNA,因此通常也很容易被SYBR Green I染色。SYBR Green I对于不易形成二级结构的非常短的单链RNA或DNA的染色非常弱。
- 本产品使用便捷、灵敏度高、信噪比好,在使用时将经过稀释的本产品直接添加到qPCR反应体系中,无需额外的步骤或特殊处理。
- 如果用于常规的qPCR检测,反应体系为20 μ l,使用终浓度为1X时,本产品每0.1ml可以进行约5万次检测,本产品每0.5ml可以进行约25万次检测,本产品每2ml可以进行约100万次检测。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D7405-0.1ml	SYBR Green I (10,000X in DMSO, qPCR Grade)	0.1ml
D7405-0.5ml	SYBR Green I (10,000X in DMSO, qPCR Grade)	0.5ml
D7405-2ml	SYBR Green I (10,000X in DMSO, qPCR Grade)	2ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C避光保存,至少一年有效。4°C避光保存,至少3个月有效。

注意事项:

- 本产品为荧光染料,须避光保存,但在使用过程中的常规室内光照不会影响其使用效果。
- 收到本产品后建议分装成小管冻存于-20°C,短期内使用可以4°C保存,避免反复冻融,实验过程应在冰上操作。
- SYBR Green I是碱不稳定的,一旦降解就会抑制PCR反应。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用,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。
- 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 在使用前需将本产品混匀,使用DMSO (ST038)或超纯水(ST873/ST876)对本产品进行稀释。通常可将本产品稀释至20X待用,例如10 μ l SYBR Green I (10,000X in DMSO, qPCR Grade)加入5ml超纯水,即为SYBR Green I (20X)。
2. 参考下表在室温或冰浴上设置qPCR反应体系(以96孔板为例):

Reagent	Final Concentration	Volume for One qPCR Reaction (20 μ l)
10X PCR Buffer (with Mg ²⁺)	1X	2 μ l
dNTP (2.5mM each)	0.2mM each	1.6 μ l
Template DNA	1-10ng cDNA	x μ l

SYBR Green I (20X)	0.2X-1X	0.2-1 μ l
Forward and Reverse Primer Mix (2.5 μ M each)	0.25 μ M	2 μ l
Taq DNA Polymerase (5U/ μ l)	0.5U/20 μ l	0.1 μ l
Ultrapure Water	-	To 20 μ l

注1: SYBR Green I的加入会影响镁离子(Mg²⁺)的最佳浓度, 镁离子浓度影响引物退火、产物特异性和酶活性, 而提高镁离子浓度能够降低SYBR Green I对PCR反应的抑制作用[4]。因此, 在使用SYBR Green I进行qPCR反应时, 镁离子浓度要比无SYBR Green I的普通PCR反应高0.5-3mM。

注2: 通常DNA模板的量以1-10ng cDNA或10-100ng基因组DNA为参考用量。因不同物种的模板中含有的目的基因拷贝数同, 如有必要, 可对模板进行梯度稀释, 以确定最佳的模板使用量。RT-PCR反应得到的cDNA直接作为模板时, 其添加量不要超过PCR反应总体积的10%。

注3: SYBR Green I的使用浓度会对实验产生影响, 浓度过低会使荧光信号不能反应产物量的变化, 影响PCR反应灵敏度; 而浓度过高则会抑制PCR反应, 降低PCR反应效率。使用时应根据实际情况对其使用浓度进行调整, 用户可以在0.2X-1X范围内摸索SYBR Green I的最佳使用浓度。

注4: 推荐使用碧云天预先设计、经过qPCR验证、预混的引物对产品。

注5: Taq酶的用量须根据酶活、是否热启动等进行调整。

注6: 须根据qPCR是否需要ROX, 适当添加ROX。

注7: 本qPCR反应体系各组分浓度仅供参考, 实际须进行严格的优化。

3. qPCR反应程序:

根据qPCR及Taq酶的扩增效率设置qPCR反应程序。建议采用如下的PCR程序, 本程序是以ABI QuantStudio™ 6 Flex荧光定量PCR仪为例:

- 预变性: 95°C 2分钟;
- 变性: 95°C 15秒;
- 退火/延伸: 60°C 15-30秒;
- 重复步骤b和步骤c, 总共40个循环;
- 熔解曲线分析(可选): 95°C 15秒, 60°C 15秒, 95°C 15秒;
- 使用荧光定量PCR仪提供的软件分析结果。

注: 以上举例为常规qPCR反应系统, 仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异, 需根据模板、引物、目的片段的特点设定最佳反应条件, 并根据比例放大或缩小反应体系。上述为两步法qPCR, 如果采用三步法qPCR, 只需在退火/延伸后加一步72°C 30秒, 随后重复步骤b、c及增加的这一步骤共40个循环即可。

4. 核酸琼脂糖凝胶电泳的使用, 参考以下方式。

方式1: 样品中加入SYBR Green I后电泳。

在电泳之前需配制SYBR Green I工作液, 使用超纯水(ST873/ST876)将10,000X母液稀释100倍至100X。按常规方法配制不加任何染料的琼脂糖凝胶, 凝胶厚度不超过5mm。将100X SYBR Green I工作液与DNA样品或DNA Marker以1:1比例混合, 加入6X Loading Buffer (若DNA Marker中已含有Loading Buffer则可不加), 室温静置10min。按常规方式上样、电泳。

方式2: 电泳完后对琼脂糖凝胶染色。

按照每100毫升缓冲液(TAE、TBE或TE, pH7.5-8.0)加入40微升SYBR Green I的比例(2500:1)加入SYBR Green (10,000X), 配制成SYBR Green I染色液。把电泳完毕的琼脂糖凝胶放到适当的容器中, 加入适量上述配制好的SYBR Green I染色液, 确保至少盖住凝胶。在摇床上缓慢摇动(30-50rpm)染色30-60分钟。染色的时间根据胶的厚度而定, 胶厚则染色时间需要长一些, 胶薄则染色时间可以短一些。染色完毕后, 可使用约500nm波长蓝光激发或相应的凝胶成像系统检测, 也可以使用常规的紫外灯或紫外凝胶成像检测系统, 但强度会弱一些。染色液可以重复使用4次左右。如果希望获得更好的染色效果图片, 染色后可以使用超纯水适当洗涤, 以降低背景荧光。

方式3: 琼脂糖凝胶中添加SYBR Green I。

根据需要配制适当浓度(例如1-3%)的琼脂糖胶液。在琼脂糖完全融解后, 适当冷却但又不会使琼脂糖凝固时, 按照每100毫升胶液加入20-40微升SYBR Green I的比例(5000-2500:1)加入SYBR Green I (10,000X)。混匀后即可把琼脂糖胶液倒入制备凝胶的模具中。适量的DNA在该胶中电泳35-45min后, 用约500nm波长蓝光激发或相应的凝胶成像系统检测, 就可以观察到明亮的核酸条带。也可以使用常规的紫外灯或紫外凝胶成像检测系统, 但强度会弱一些。

注1: 可根据实际染色效果对SYBR Green I的使用浓度进行适当的调整。

注2: 方式2即“电泳完后对琼脂糖凝胶染色”的效果相对更好一些, 但SYBR Green I的整体染色效果一般, 特别是1000bp以下的小片段。对于蓝光下检测, 更推荐NA-Green (EB升级换代产品, 2000X) (D0133/D0135)、NA-Green Plus (EB升级换代产品, 2000X) (D0136)、Gel-Green (EB升级换代产品, 10000X) (D0143/D0145)、Gel-Green Plus (EB升级换代产品, 10000X) (D0147), 效果更佳。

参考文献:

- Marilynn R Fairfax, Hossein Salimnia. Molecular Diagnostics. 2010. Pages 3-14.
- Cao H, Shockey JM. J Agric Food Chem. 2012. 60(50):12296-303.
- Xiang D, Zhai K, Xiang W, Wang L. Talanta. 2014. 129:249-53.
- Karsai A, Müller S, Platz S, Hauser MT. Biotechniques. 2002. 32(4):790-2, 794-6.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D7405-0.1ml	SYBR Green I (10,000X in DMSO, qPCR Grade)	0.1ml
D7405-0.5ml	SYBR Green I (10,000X in DMSO, qPCR Grade)	0.5ml
D7405-2ml	SYBR Green I (10,000X in DMSO, qPCR Grade)	2ml
R0021	DEPC水(DNase、RNase free)	100ml
R0022	DEPC水(DNase、RNase free)	500ml
ST038-100ml	DMSO	100ml
ST038-500ml	DMSO	500ml
ST873-100ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (PCR级, Sterile)	100ml
ST876-100ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	100ml
ST876-500ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	500ml

Version 2023.11.03