

2×SYBR Green PCR Mastermix

产品货号: T11235

产品规格: 50T (1.25ml) /200T (4×1.25ml)

产品介绍:

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。

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。

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。

使用方法:

反应条件

1. 两步法

热启动: 95℃ 3分钟;

变性: 95℃ 10~20秒;

退火/延伸: 60℃ 20~60秒。 } 35~45个循环

融解曲线分析。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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。

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	

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。

保存:

本产品-20°C保存有效期至少一年, 2-8°C可保存3个月。解冻后应充分混匀, 避免产生大量气泡。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>