

产 品 说 明 书

Biolife Green I, 10,000× in DMSO (荧光定量 PCR 级染料)

产品货号: S2018

产品规格: 0.5 mL

储存条件

4℃避光保存, 有效期见外包装。使用时应避免反复冻融, 建议分装成小管冻存。

产品介绍

Biolife Green I 效能等同于 Sybr Green I。

Biolife Green I 是一种结合于 dsDNA 双螺旋小沟区域的具有绿色发射光的荧光染料。Biolife 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, 具有高灵敏度与高信噪比等优势, 可应用于基因表达差异分析, 基因芯片等。

使用方法

1. 用 DMSO 或无菌超纯水将 10,000×染料进行稀释, 如稀释 500 倍得到 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 μ L
50 mM $MgCl_2$ ①	2.5 μ L
2 mM dNTP	5 μ L
20×Biolife Green	2.5 μ L
Taq DNA polymerase	1-5 units
F, R Primers	各 0.1-0.5 μ M
模板 DNA ②	适量
无菌超纯水	补足至 50 μ L

注: ① 提高 Mg^{2+} 浓度可以降低 Biolife Green I 对 PCR 反应的抑制作用。我们建议在用 Biolife Green I 进行荧光 PCR 反应时, Mg^{2+} 浓度比无 Biolife Green I 的普通 PCR 反应高出 0.5~3 mM。

② 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
预变性	95℃	2 min	1



变性	95°C	5 s	45
退火	50-60°C	5 s	
延伸	72°C	25 s*	

*注：在该步骤进行荧光信号采集设置：请按照仪器使用说明书要求进行实验程序设置，几种常见仪器的时间设定如下：

30 sec 以上：Applied Biosystems: StepOne, StepOne Plus, 7500 Fast; Roche Applied Science: LightCycler 480; Bio-Rad: CFX96; 31 sec 以上：Applied Biosystems: 7300; 34 sec 以上：Applied Biosystems: 7500。

3. 分析数据。

注意事项

1. Biolife 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 Biolife Green 染料时应根据实际情况优化使用浓度，反应的终浓度为 $1\times$ 到 $0.2\times$ 之间。
2. Biolife Green I 荧光染料随着时间的推移可能会在光照下褪色，从而导致敏感性下降，因此在存储和使用过程中要避免强光照射。
3. Biolife Green I 荧光染料应避光存放，原液保存于 -20°C ；建议分装成小管冻存，短期可以 4°C 保存。
4. 为了您的健康，请穿实验服并戴一次性手套进行操作。

