

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

产品介绍

Biolife Green I 效能等同于 SYBR 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。该可应用于基因表达差异分析，基因芯片等。

应用范围

实时定量 PCR、核酸染料

产品货号

S2018

储运条件

-20℃避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

产品特点

批间差小：公司自研产品，批间差稳定；

使用方便：提供多种浓度的 Biolife Green I 染料，选择灵活方便。

产品组分

组分	S2018
Biolife Green I, 10,000× in DMSO (荧光定量PCR级染料)	1 mL

产品参数

外观：橙黄色液体

λabs/λem：497/520 nm (结合 DNA)

注意事项

- 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 I 染料时应根据实际情况优化使用浓度，反应的终浓度为 1×到 0.2×之间。
- 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应避光，原液建议分装成小管冻存，保存于 -20℃，短期可以 4℃保存。
- 扩增片段长度：推荐的 DNA 扩增长度为 50-200 bp，如果需要扩增更长的 DNA 片段，那么需要适当延长 PCR 的反应时间。
- 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
- 荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
- 本产品仅限于科研，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。

使用方法

1. 荧光定量 PCR (仅供参考)

(1) 主要试剂

1) Primer (hβ-actin)：

forward 5' -CACCCACACTGTGCCCATCTACGA-3'

reverse 5' -CAGCGGAACCGCTCATTGCCAATGG-3'

2) HS Taq DNA Polymerase: Thermo (EP0612)

3) Glycerlo: Sigma (V900090-500 mL)

4) BSA: Sigma (A7030)

5) 10 mM dNTPs: Takara (4019)

(2) 实验步骤

1) 配制 2×Biolife Green I Buffer

组分	浓度	体积 (μL)
1 M Tris HCl pH8.5	50 mM	5
500 mM (NH ₄) ₂ SO ₄	20 mM	4
50 mM MgCl ₂	7 mM	14
50% glycerol	2.5%	5
DMSO	10%	10
20×Biolife Green I	2×	10
10 mM dNTPs	0.4 mM	4
2% Tween 20	0.03%	1.5
1 mg/mL BSA	22 mg/mL	2.2
dH ₂ O	/	44.3
Total volume	/	100

注：a. 请根据不同的仪器类型，不加入或加入合适浓度的参比染料 ROX。

b. 该体系需根据所使用的 Taq 酶的不同进行适当优化。

2) 配制 q-PCR 反应体系

包括实验组，阴性对照，阳性对照，共三组，同时进行检测，分别进行三次平行实验。

体系	20 μL/管反应
10 μM primers	1 μL
模板	适量
HS Taq DNA 酶 (5 U/μL)	0.2 μL
2×Biolife Green I buffer	10 μL
dH ₂ O	定容至 20 μL

注：a. 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%。

b. 引物终浓度一般控制在 0.1-0.5 μM 范围内。

3) 混匀离心、上机进行荧光定量 PCR (仪器为 Roche: LC96)。

PCR 程序

步骤	温度	时间
Step 1	95℃	2 min
Step 2	95℃	5 sec
Step 3	60℃	30 sec
Step 2~3, 重复 45 个循环		
熔解曲线 Tm 值 57℃~99℃		

注：在 qPCR 仪器设置程序时，在退火或延伸步骤中选择 SYBR Green 或 FAM 通道。

4) 保存数据，判断样本质量

a. 检测样品与标准品之间的 Ct 值差；

b. 检测样品与标准品之间的荧光强度差；

检测结果需达到：以上两组检测指标无显著性差异。

5) 可选：如需对 PCR 产物进行凝胶电泳分析，无需额外凝胶染色。只需将 DNA loading buffer 加入 PCR 产物溶液中，混匀后直接上样电泳。凝胶可以通过紫外凝胶成像仪，或含有 488nm 激发的凝胶扫描仪及蓝色 LED 成像仪进行成像。

同系列产品

产品货号	产品名称
S2007	AugeGreen™ qPCR染液, 20× in water
S2032	AugeGreen™qPCR染液, 2000× in DMSO
S2016	Biolife Green I, 20× in DMSO (荧光定量PCR级染料)
S2017	Biolife Green I, 20× in water (荧光定量PCR级染料)
S2018	Biolife Green I, 10,000× in DMSO (荧光定量PCR级染料)

相关联产品

产品货号	产品名称
R5009	5-ROX (羧酸)
R5040	6-ROX (羧酸)
R2012	ROX参比染料 (25 μM in TE缓冲液)
R2021	6-ROX glycine (6-ROX甘氨酸) , 25μM
R5152	5-ROX glycine (5-ROX 甘氨酸)
S2016	Biolife Green I, 20×in DMSO (荧光定量PCR级染料)
S2018	Biolife Green I, 10,000×in DMSO (荧光定量PCR级染料)
S2017	Biolife Green I, 20×in water (荧光定量PCR级染料)
S2007	AugeGreen™, 20×in water (荧光定量PCR级染料)
S2032	AugeGreen™, 2000×in DMSO (荧光定量PCR级染料)