天净沙系列

CAT#:230336

低温运输，-20℃保存

天净沙

钙黄绿素溶液 20×

Calcein Solution 20×

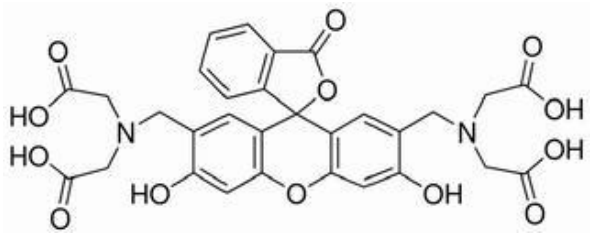
使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

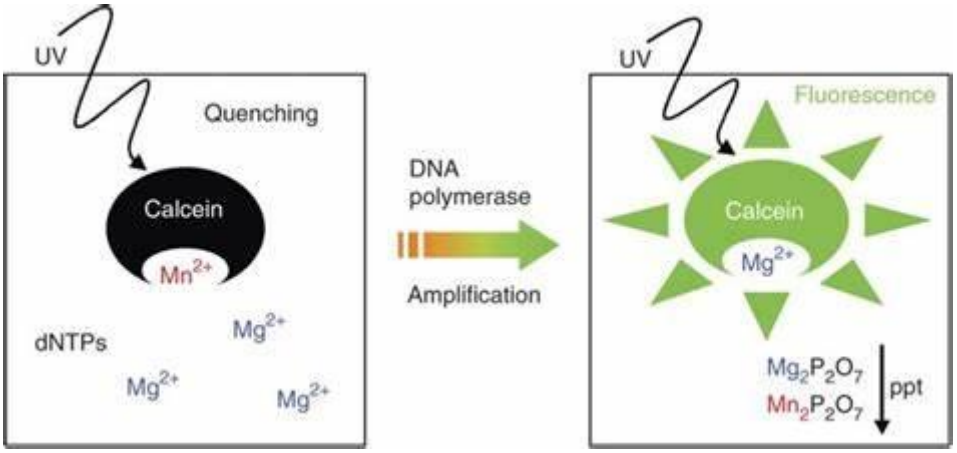
网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

钙黄绿素（Calcein）的 CAS 号为 1461-15-0，其分子结构式如下：



钙黄绿素可用作恒温扩增可见光染料，其原理是在有 Mn 离子存在的恒温扩增体系，如果没有核酸扩增发生，Mn 离子和钙黄绿素结合，在紫外照射时不发荧光。如果有核酸扩增发生，则 DNA 合成时将产生大量焦磷酸，这些焦磷酸将优先跟 Mn^{2+}结合，钙黄绿素则跟体系中多余的 Mg^{2+}结合，在紫外照射时将发荧光。标准恒温扩增反应中的镁离子浓度通常在 4-10mM 之间（跟引物浓度，dNTP 浓度相关）。其原理图如下：



本产品就是专门用于恒温扩增的钙黄绿素染料，为 20×，它具有下列特点：

1. 即开即用，可以直接加入到含 Mn 的恒温扩增体系中。
2. 其最佳用量根据恒温扩增体系不同需要用户自己优化，但一般需要终浓度为 0.5 mM 的 Mn 离子，Mg 离子终浓度跟标准恒温扩增反应的 Mg 离子浓度一样。
3. 本产品足够 1000 次左右的 20 μL 体系的恒温扩增反应。
4. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用 logo 热封袋包装

成份	编号	规格	包装
钙黄绿素溶液 20×	230336	1 mL	2 mL 棕色管
使用手册	230336sc	1 份	1 份

运输及保存

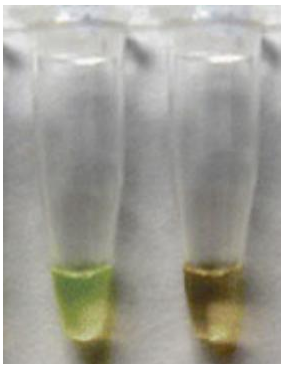
低温运输，-20℃保存，有效期一年。

使用方法

1. 将本产品放置在室温融化 30 分钟，震荡 10 秒钟，短暂离心后放冰上待用。
2. 按下表设置 20 μL 体系的恒温扩增反应：

成份	样品管	阴性对照
4×恒温扩增 Mix	5 μL	5 μL
自备 FIP 引物终浓度	0.8 μM	0.8 μM
自备 BIP 引物终浓度	0.8 μM	0.8 μM
自备 F3 引物终浓度	0.2 μM	0.2 μM
自备 B3 引物终浓度	0.2 μM	0.2 μM
自备 Loop F 引物终浓度（可选项）	0.4 μM	0.4 μM
自备 Loop B 引物终浓度（可选项）	0.4 μM	0.4 μM
自备模板 DNA	1-100 ng	不加
Bst DNA 聚合酶(8 U/μL)	1.5 μL	1.5 μL
5 mM $MnCl_2$ 溶液	2 μL	2 μL
本产品	1μL	1μL
补水到	20 μL	20 μL

3. 65℃保温 1 小时。
4. 恒温扩增后在紫外灯下检测，有核酸扩增的将发荧光，管中液体颜色为黄绿色。没有扩增的将不发荧光，管中液体颜色为橘黄色。典型的实验结果如下（左边的有扩增，黄绿色。右边的没有扩增，溶液颜色为橘黄色）：



5. 也可以电泳检测实验结果（强烈不推荐此法，因为电泳时产生的气溶胶非常容易污染环境，使得今后用同一引物扩增时产生假阳性）：取 5-10 μL 扩增产物和自备的上样液混合，上样，进行 2-3%的琼脂糖凝胶电泳，有恒温扩增的样品将可见恒温扩增特征性电泳图谱。

关联产品

1.5 mM 羟基萘酚蓝溶液（HNB 溶液）