

## 核苷酸胶体染料；SYBR Green I

**产品编号：**MB2509

**产品名称：**核苷酸胶体染料；SYBR Green I

**包装：**100 $\mu$ l/500 $\mu$ l

### 产品简介：

核苷酸胶体染料是一种新型荧光核酸染料，具有安全、灵敏等突出特点，可以作为各种核酸电泳的染色剂。与高致癌的 EB 不同，该产品属于花青类染料，毒性很低，使用安全。该染料与核酸结合后的最大吸收峰为 490 nm，另外，在紫外区 300 nm ~ 380 nm 处还有一个吸收峰。与核酸结合后，该染料发射绿色荧光，最大发射波长为 515 nm。可用可见光凝胶透射系统观测，也可用紫外凝胶透射系统观测。该染料可用预染和后染两种方法对核酸样品进行染色，其染色的灵敏度好于 EB。

### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
1	核苷酸胶体染料；SYBR Green I	100 $\mu$ l/500 $\mu$ l
2	说明书	1 份

### 保存条件：

-20 $^{\circ}$ C 避光保存，一年有效，经稀释后的染料可于 2-8 $^{\circ}$ C 避光保存 5 天。

### 使用说明：

#### 1. 预染染色法

##### 1.1 配制 Loading Buffer 预染液

将该染料与 6 $\times$  Loading Buffer 按照 1:9 的比例混合（如 5 $\mu$ l 的染料与 45 $\mu$ l 的 6 $\times$  Loading Buffer 混合）。配制的 Loading Buffer 预染液可常温或 2-8 $^{\circ}$ C 避光保存三天。

注：含有 SDS 的 Loading Buffer 会影响电泳结果，不适合配合本染料使用，建议使用不含 SDS 的 Loading Buffer。

##### 1.2 制胶

按常规操作溶解琼脂糖，待冷却到 65~55 $^{\circ}$ C 后，加入染料（1  $\mu$ l 的染料制备 10 ml 的胶），轻轻混合摇匀，然后制胶。

##### 1.3 样品、Marker 预染

(a) 样品预染：将需要进行电泳的样品与配制好的 Loading Buffer 预染液按照 5:1 的比例混合，预染 3 min。

(b) Marker 预染：按照以上相同的方法与待检测的样品同时上样的 DNA Marker 进行预染。

##### 1.4 电泳

按常规方法上样电泳。

由于样品加入染料后，使得样品的迁移率变慢，所以电泳电压的大小和琼脂糖浓度会对电泳结果有比较大的影响。因此建议在初次使用本染料时参考下表参数进行电泳。

DNA 片段长度	琼脂糖浓度	电压
50 bp ~ 100 bp	3.0%	5 ~ 8 V/cm
100 bp ~ 500 bp	2% ~ 3%	5 ~ 8 V/cm
500 bp ~ 4 kb	1% ~ 2%	5 ~ 8 V/cm
4 kb ~ 10 kb	0.8% ~ 1%	6 ~ 10 V/cm
10 kb 以上	0.6%	6 ~ 10 V/cm

### 常见问题：

A. 质量较差的琼脂糖对本实验会产生影响，使电泳分辨率降低，所以要使用较好的琼脂糖。



- B. 由于该染料的灵敏度，上样的 DNA 量较大时可能会使条带分不清，所以建议一般的商品 Marker 和浓度较高的样品可以适当稀释后使用。（一般 2  $\mu$ l 配制好的 Loading Buffer 预染液对 DNA 的有效承载量为 100 ~ 500 ng.）
- C. 实验过程中请务必根据 Loading Buffer 中指示带位置判断电泳时间，电泳时间太长会导致 DNA 跑出凝胶。连续电泳时间超过 2 小时会导致染料从 DNA 上分离出来，使电泳条带变淡。
- D. 使用过的含染料的凝胶可以融化后重新倒胶使用，但是制胶时需要重新添加染料。
- E. 使用本染料，也可在制胶时不加入染料，样品直接用 Loading Buffer 预染液预染后上样电泳，但胶里不加染料的方法对电泳迁移率影响较大，会导致分子量不是很准确，电泳条带不是很整齐，灵敏度也会降低，因此，该方法仅适用于简单的电泳实验，如胶回收，简单 PCR 产物分析等。

## 2. 后染染色法

### 2.1 琼脂糖凝胶电泳后染染色法

- 按照常规方法进行电泳。不需要在制胶时加染料，也不需要配制预染液。
- 用 pH 7.0~8.5 的缓冲液（例如 TAE、TBE 或 TE），按照 1:10,000 或 2:10,000 的比例稀释该染料，轻轻震荡混匀，即成染色液。染色液一周内，避光低温储存应可用至少 4 次。
- 将凝胶完全浸入染色液中，室温避光震荡染色 30~60 min。染色时间根据胶浓度及厚度确定。凝胶越厚、浓度越高，所需的染色时间越长。

### 2.2 聚丙烯酰胺凝胶电泳后染染色法

- 按照正常方式进行电泳
- 用 pH 7.0~8.5 的缓冲液（例如 TAE、TBE 或 TE），按照 3:10,000 或 4:10,000 的比例稀释该染料，轻轻震荡混匀，即成染色液。染色液一周内，避光低温储存应可用至少 4 次。
- 将凝胶完全浸入染色液中，室温避光震荡染色 30~60 min。染色时间根据胶浓度及厚度确定。凝胶越厚、浓度越高，所需的染色时间越长。

#### 注意事项：

- 本公司提供的产品溶解在 DMSO 中，从冰箱取出后应恢复至室温，充分融化并混匀后方可使用。DMSO 的冰点是 18 $^{\circ}$ C，所以将该染料直接加入过冷的溶液中时，可能会有微小的不溶物出现，一般 37 $^{\circ}$ C 温浴即可溶解。
- 此染料对玻璃等非聚丙烯材料具有一定的亲和力，建议在稀释、储存、染色等使用过程中使用聚丙烯类容器。
- 在常规酒精沉淀核酸的过程中，该染料可全部从双链核酸上去掉。
- 有毒，注意防护。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

J240103

