

## SYTO 9 绿色荧光核酸染料(高纯粉末)

产品编号: MC7003

质量标准: >98%,BR

包装规格: 1mg / 5mg / 100mg

产品形式: 固体

### 基本信息:

分子量	305.42
储存条件	-20℃, 避光防潮密闭干燥
溶解性(25℃)	DMSO: >1.527mg/ml (5mM)
注意事项	溶解性是在室温下测定的, 如果温度过低, 可能会影响其溶解性。
其他说明	为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

**简介:** SYTO 9 是一种可以与核酸结合并发出明亮绿色荧光的细胞渗透性荧光染料。SYTO 9 应用广泛, 可以用来染色活细胞、死细胞及细菌中的 RNA 和 DNA。另外也可以用于 RT-PCR、DNA 溶解曲线分析及环介导等温扩增 (LAMP) 实验, 其 PCR 抑制率低、信噪比高、灵敏度高, 是 SYBR Green I 的理想替代染料。本产品以高纯度粉末形式提供, 可以根据实验需求自行配制不同浓度的溶液使用, 操作灵活, 用途广泛。

**别名:** SYTO 9 Green Fluorescent Nucleic Acid Stain

### 物理性状及指标:

外观: ..... 橙色固体

纯度: ..... >98%

澄清度: ..... DMSO 中澄清, 无杂质

激发/发射波长: ..... 485/498nm (与 DNA 结合); 486/501nm (与 RNA 结合)

**运输条件:** 湿冰运输 (按季节)

**产品用途:** 科研试剂, 广泛应用于分子生物学、细胞生物学、药理学、微生物学等科研方面, 严禁用于人体。

1. 细胞染色: SYTO 9 具有细胞膜渗透性, 能够很好地渗透进入原核和真核细胞膜, 广泛与细胞核、细胞质及线粒体内的 DNA 和 RNA 结合发出明亮的绿色荧光。

2. 细菌死活染色: SYTO 9 常与碘化丙啶 (PI) 联合使用, 用于区分活细菌和死细菌, 评估细菌的存活率或药物对细菌的影响。

3. RT-PCR、DNA 溶解曲线分析及环介导恒温扩增技术 (LAMP): SYTO9 作为一款灵敏的 DNA 结合染料, 可以替代 SYBR Green I 用于核酸扩增实验中。

**使用方法:** (来自公开文献, 仅供参考)

#### 1. 细胞染色:

(1) SYTO 9 储存液配制: 以 1mg 产品为例, 加入 654.8μL DMSO, 充分溶解, 制备成 5mM 母液。溶解后的母液建议分装, 避光储存于 -20℃, 可稳定保存 1 年。

(2) 根据实验样本类型, 参考表 1 内建议的工作液浓度稀释染料。注意: 初次实验, 请在建议浓度范围内多设置不同的梯度浓度, 以确定能得到最佳染色效果的工作液浓度。悬浮细胞: 离心收集细胞, 用生理盐溶液重悬细胞。贴壁细胞 (比如: 哺乳动物细胞): 可以在盖玻片或细胞培养板上原位染色。

(3) 根据表 1 提供的孵育条件进行孵育染色。注意: 生长培养基、细胞密度、是否存在其它细胞和其它因素都可能影响染色。染色条件需要根据不同细胞类型和实验进行调整。

(4) 使用荧光显微镜观察染色结果。染色的真核细胞通常显示出弥散的细胞浆染色、细胞核染色及明亮的核内小体染色, 呈现绿色荧光。由于此染料具细胞膜渗透性, 且中性 pH 下带净正电荷, 也有可能染线粒体。活酵母菌内主要为线粒体染色。

表 1. SYTO 9 染色不同细胞的建议工作浓度和孵育条件

细胞类型	SYTO 9 浓度	孵育条件
细菌	50nM-20μM	涡旋混匀, 孵育 1-30 min
真核细胞	10nM-5μM	孵育 10-120 min
微阵列	50nM in TE buffer	孵育 5 min, 清洗之后晾干



## 2. 活死细菌染色:

- (1) SYTO 9 储存液配制: 以 1mg 产品为例, 加入 654.8 $\mu$ L DMSO, 充分溶解, 制备成 5mM 母液。
- (2) 用棕色离心管稀释 SYTO 9 和 PI (美仑货号: MA0137/MB2920), 使其浓度分别为 33.4 $\mu$ M 和 400 $\mu$ M。
- (3) 向 0.9mL 收集的细菌培养物中加入 SYTO 9 和 PI 工作液各 50 $\mu$ L, 使其最终浓度分别为 1.67 $\mu$ M 和 20 $\mu$ M。
- (4) 避光孵育 15 分钟。
- (5) 使用荧光显微镜观察或者流式细胞仪进行检测。

## 3. RT-PCR 和 DNA 熔解曲线分析

以 1mg 产品为例, 加入 1.6371mL DMSO, 完全溶解, 即为配制 1000x SYTO 9 染料溶液 (2mM)。在扩增体系中加入终浓度 2 $\mu$ M 的 SYTO 9, 与体系混合均匀后, 进行 RT-PCR 程序, 使用 FAM 通道进行结果分析。

## 4. 环介导恒温扩增技术 (LAMP)

在扩增体系中加入终浓度为 0.4mM 的 SYTO 9, 与体系混合均匀后, 扩增条件设置为 63 $^{\circ}$ C 50min 进行扩增。

### 【注意】

- 建议使用塑料管稀释 SYTO 9, 稀释后的溶液会粘附在玻璃上, 因此建议避免使用玻璃器皿。
- 建议使用不含磷酸盐的缓冲液稀释, 可以得到更好的染色效果。
- 塑料或玻璃器皿上的残留洗涤剂也可能影响染色效果, 导致在含或者不含细胞的溶液中都能看到明亮荧光的材料。建议用温和的清洁剂清洗所有实验室器皿, 用热自来水完全冲洗干净, 最后用去离子水冲洗数次。
- 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。
- 我司产品为非无菌包装, 若用于细胞培养, 请提前做预处理, 除去热原细菌, 否则会导致染菌。
- 部分产品我司仅提供部分信息, 我司不保证所提供信息的权威性, 以上数据仅供参考交流研究之用。

### 参考文献:

- [1] Robertson J, McGoverin C, Vanholsbeeck F, Swift S. Optimisation of the Protocol for the LIVE/DEAD<sup>®</sup> BacLight<sup>™</sup> Bacterial Viability Kit for Rapid Determination of Bacterial Load. *Front Microbiol.* 2019 Apr 12;10:801.
- [2] Monis PT, Giglio S, Saint CP. Comparison of SYTO9 and SYBR Green I for real-time polymerase chain reaction and investigation of the effect of dye concentration on amplification and DNA melting curve analysis. *Anal Biochem.* 2005 May 1;340(1):24-34.
- [3] Park, T. G., Park, Y. T., & Lee, Y. (2009). Development of a SYTO9 based real-time PCR probe for detection and quantification of toxic dinoflagellate *Karlodinium veneficum* (Dinophyceae) in environmental samples. *Phycologia*, 48(1), 32–43.
- [4] Lu R, Wu X, Wan Z, Li Y, Zuo L, Qin J, Jin X, Zhang C. Development of a Novel Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Method for Rapid Detection of SARS-CoV-2. *Virology*. 2020 Jun;35(3):344-347. doi: 10.1007/s12250-020-00218-1. Epub 2020 Apr 1. Erratum in: *Virology*. 2020 Aug;35(4):499.

S240801

