

SYBR Green I 使用介绍

SYBR Green I 核酸染料简介

SYBR Green I 是高灵敏的 DNA 荧光染料，适用于各种电泳分析，操作简单，无须脱色或冲洗；至少可检出 20pg DNA，高于 EB 染色法 25-100 倍。SYBR Green I 与 dsDNA 结合荧光信号会增强 800-1000 倍，用 SYBR Green I 染色的凝胶样品荧光信号强，背景信号低，可适用于多种电泳分析。

SYBR Green I 适合于多种凝胶电泳方法：琼脂糖凝胶、聚丙烯酰胺凝胶电泳、脉冲电场凝胶电泳和毛细管电泳等。

SYBR Green I 与双链 DNA 的亲合力非常高，因此可以用做电泳前染色，对分子生物学中常用的酶（如：Taq 酶、逆转录酶、内切酶、T4 连接酶等）没有抑制作用；另外，SYBR Green I 与 EB 相比，诱变能力大大降低。

SYBR Green I 核酸染料特点

- 灵敏高：至少可检出 20pg DNA，高于 EB 染色法 25-100 倍。
- 信噪比高：样品荧光信号强，背景信号低。
- 操作简单：无须脱色或冲洗。
- 适用范围广：可适用于多种电泳分析。
- 使用方便：不影响其它修饰酶作用。
- 经济：价格比银染便宜。

电泳用 SYBR Green I 使用方法简介

一、SYBR Green I 预染色方法

- 1、该方法适于琼脂糖凝胶电泳和 PAGE 凝胶电泳。
- 2、工作液的配制：用电泳缓冲液将 10000× 的 SYBR Green I 稀释 100 倍，即为 SYBR Green I 工作液。SYBR Green I 工作液可以置 2-8℃ 冷藏一个月以上。
- 3、制胶：按常规方法制胶，不含任何染料。
- 4、样品染色：向分析样品中加入 SYBR Green I 工作液和载样缓冲液，室温放置 10 分钟，

使 SYBR Green I 与样品中 DNA 充分结合。SYBR Green I 工作液加入量为总上样量的 1/10。

5、DNA Marker 染色：将 5 μ L DNA Marker 和 5 μ L DNA Marker 稀释液和 1 μ L SYBR Green I 工作液混匀，室温放置 5 分钟，使 SYBR Green I 与 DNA 充分结合。

6、上样、电泳：按常规操作。

二、SYBR Green I 后染方法

1、按照常规方法进行电泳。

2、用 PH 7.0 - 8.5 的缓冲液(如: TAE, TBE 或 TE), 按照 10000: 1 的比例稀释 SYBR Green I 浓缩液, 混匀, 制成染色溶液。

3、将染色溶液倒入合适的聚丙烯容器中, 放入凝胶, 用铝箔等盖住容器使染料避光。室温振荡染色 10-30 分钟, 染色时间因凝胶浓度和厚度而定。聚丙烯酰胺凝胶直接在玻璃平皿上染色, 将配好的工作溶液轻轻地倒在胶板上, 让工作液均匀地覆盖整个胶板, 并染色 30 分钟。玻璃平皿必须预先经过硅烷化溶液处理(避免染料吸附在玻璃表面上)。

三、SYBR Green I 使用注意事项

1、在"SYBR Green I 预染色方法"中, 电泳时间不要超过 2 小时, 否则 SYBR Green I 会从 DNA 上分离出来, 会产生弥散状条带。

2、在常规用酒精沉淀核酸的过程中, SYBR Green I 可以全部从双链核酸上去掉。

3、如果想对用 SYBR Green I 染过的胶进行 Southern blots, 建议在预杂化和杂化溶液中加入 0.1%- 0.3% 的 SDS。

4、在紫外照射透视下, 与双链 DNA 接合的 SYBR Green I 呈现绿色荧光。如果胶中含有单链 DNA 则颜色为橘黄而不是绿色。

5、SYBR Green 对玻璃和非聚丙烯材料具有一定亲合力。建议在稀释、贮存、染色等使用过程中用聚丙烯类容器。

荧光定量 PCR 用 SYBR GreenI 使用方法简介

SYBR Green I 与 dsDNA 结合荧光信号可增强 800—1000 倍。在 PCR 反应体系中, 加入过量 SYBR Green I 荧光染料, SYBR 荧光染料特异性地掺入 DNA 双链后, 荧光信号增强, 而不掺入链中的 SYBR Green I 染料分子荧光不变, 从而保证荧光信号的增加与 PCR 产物的增加完全同步。荧光可以在退火阶段或者延伸阶段测定。

使用浓度对荧光 PCR 结果的影响

SYBR Green I 荧光定量 PCR 的试验成功有很多因素，但是 SYBR Green I 的使用浓度是非常关键的因素，如果 SYBR Green I 的浓度过低会使荧光信号的变化降低。这就意味着低拷贝的样品可能无法检出；而在高浓度时，将会抑制 PCR 反应。降低 PCR 反应效率。所以一般在使用 SYBR Green I 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。

镁离子浓度的影响

提高镁离子浓度可以降低 SYBR Green I 对 PCR 反应的抑制作用。我们建议在用 SYBR Green I 进行荧光 PCR 反应时，镁离子浓度要比无 SYBR Green I 的普通 PCR 反应要高出 0.5 到 3mM。

GoldView DNA 染料

简介

GoldView DNA 染料是 EB 溴化乙锭的新型替代品，无毒无致使癌作用，其检测核酸的灵敏度比 EB 染色法平均高 10 倍左右，与美国 Molecular Probe 公司的 SYBR Green I 染料的灵敏度相当。使用方法与之完全相同，也可以根据荧光定量；更优势的是其在紫外灯下——双链 DNA 呈绿色荧光，单链 DNA 呈红色荧光。通过小鼠皮下注射实验，未发现有致癌作用，而溴化乙锭（EB）是一种强致使癌剂。因此选用我们新推出的 GoldView DNA 染料，是一种环保、明智的选择。

使用方法

每 100ml 琼脂糖（0.8%-2%）融化后，只需加入 5ul 的 GoldView DNA 染料即可，然后冷却至 60 度灌胶。

注意事项

该新型 DNA 染料虽然无致癌作用，但对皮肤和眼睛有少量的刺激性，建议操作时戴好手套。



上海闪晶分子生物科技有限公司

地址：上海市闵行区北桥镇吴河路328号A栋2楼

邮编：201109

联系：市场部

电话：5446 0832 800-988-1995

E-mail:master@shinegene.org.cn

网址：www.shinegene.org.cn

