



SYBR Green 1 荧光染料

简介

SYBR Green 1 荧光染料 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。

产品状态及储存条件

1. 本公司提供的产品是溶解在 DMSO 中的, 从冰箱取出后应恢复至室温是指充分融化, 并混匀后方能使用。DMSO 的冰点是 18° 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° C 温育即可溶解。
2. 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。
3. 在常规酒精沉淀核酸的过程中, 该染料可以全部从双链核酸上去掉。
4. 储存条件, -20° C 避光保存, 有效期一年, 经稀释后的染料可于 4° C 避光保存 4~5 天。

使用方法

1. 预染染色法

a. 配制 Loading Buffer 预染液

将该染料与 6×Loading Buffer 按照 1:9 的比例混合 (如 5μl 的染料与 45μl 的 6×Loading Buffer 混合)。配制的 Loading Buffer 预染液可常温或 4° 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。

2. 制胶

按常规操作溶解琼脂糖, 待冷却到 65~55° C 后, 加入染料 (1μl 的染料制备 10ml 的胶), 轻轻混合摇匀, 然后制胶。

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 3min。

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 Maker 进行预染。

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



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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	两极之间的电压
50 bp~100 bp	3%	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

提示:

- 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。
- 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 μ l 配制好的 Loading Buffer 预染液对 DNA 的有效承载量为 100~500ng。)
- 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。
- 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。
- 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,因此分子量也不是很准确,电泳条带也不是很整齐,灵敏度也降低,因此,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

a. 琼脂糖凝胶电泳后染染色法

A. 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。

B. 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。

C. 将凝胶完全侵入染色液中,室温避光震荡染色 30~60min。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。

b. 聚丙烯酰胺凝胶电泳后染染色法

A. 按照正常方式进行电泳

B. 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。

C. 将凝胶完全侵入染色液中,室温避光震荡染色 30~60min。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。