

10000X Sybr Green I



北京博凌科为生物科技有限公司
Beijing BLKW Biotechnology Co., Ltd.
Tel: 010-57158602/52872342/80773165 (Fax)
[Http://www.blkwbio.com/](http://www.blkwbio.com/)
E-mail: blkwbio@blkwbio.com

使用说明书

10000X Sybr Green I 核酸染料

本品用 DMSO 溶解，因 DMSO 的熔点是 18.5℃，使用前请放置到室温充分溶解。

SYBR Green I 核酸染料特点

- 无毒性：属花萼类染料，容易生物降解，无致癌毒性。
- 灵敏度高：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，即可直接用紫外凝胶透射仪或可见光透射仪观察。
- 适用范围广：可适用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。
- 使用方便：对分子生物学中常用的酶（如：Taq 酶、反转录酶、内切酶、T4连接酶等）没有抑制作用。
- 经济：价格比银染便宜。

SYBR Green I 使用方法简介

1. 胶染法（用法同EB）（推荐方法，见图1）

- （1）制胶时加入SYBR Green I 核酸染料。冷却胶至50℃左右，每100mL胶中加入3~5μL SYBR Green I 核酸染料。
 - （2）按照常规方法进行电泳即可。
- ◆ 注：此方法染色可以准确确定核酸片段分子量，染料用量相对较少。1mL 染料大约可以做 300 块 100mL 的胶。

2. 点染法（见图3）

- （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℃保存一个月以上。
 - （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1/5~1/10。
 - （5）DNA Marker染色：将5μL DNA Marker、5μL DNA Marker稀释液和1μL 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。
- ◆ 注：用点染法染色时，灵敏度最高，染料用量最少。但大片段稍有滞后现象，如果需要更准确确定分子量（与 Marker 对比），建议使用胶染法。

3. 泡染法

- （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，将配好的稀释溶液轻轻地倒在胶板上，让稀释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）。

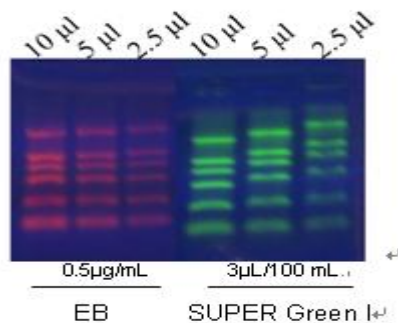
◆ 注：用泡染法染色时，可以精确确定核酸片段分子量。但染料用量是三种方法中最多的。

4. 点染+胶染法（见图 2）

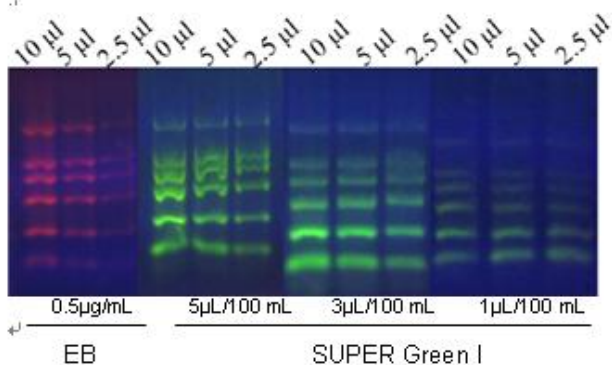
此法结合方法 1 和方法 2，灵敏度最高，对于低浓度样本比 EB 检测更灵敏。

几种染色方法特点比较（Super Green I 为 Sybr green I 的推广名）

特点 染色方法	灵敏度	染料 用量	确定片段分子量精确度
胶染法（推荐方法）	较高	较少	较高
点染法	很高	最少	大片段稍有滞后
泡染法	较高	最多	最高
点染+胶染法	最高	较多	大片段稍有滞后



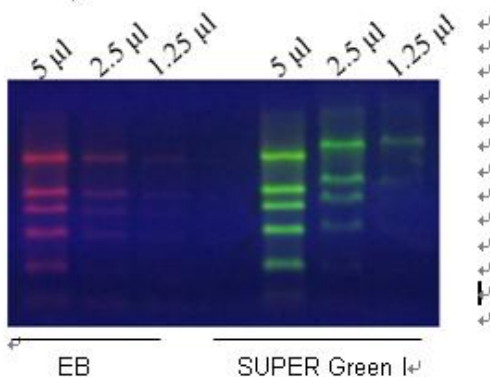
EB胶染和SUPER Green I胶染+点染对比图。每孔道分别上DNA marker 2000 10µL, 5µL及2.5µL。



EB和SUPER Green I胶染法对比图。每孔道分别上DNA marker 2000 10µL, 5µL及2.5µL。

图1 胶染法

图2 胶染+点染法



EB和SUPER Green I点染法对比图。分别加1/10体积上样的染料，室温静置5分钟，之后每孔道分别上DNA marker 2000 5µL, 2.5µL及1.25µL。

图3 点染法

SYBR Green I 使用注意事项

- (1) 在 SYBR Green I 点染法中，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) 用点染方法染色时，条带稍有滞后现象，如果需要确定片段精确分子量（与 Marker 对比），建议使用胶染法（方法 1）。
- (3) 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。
- (4) 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。
- (5) 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。
- (6) SYBR Green I 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。