

SYBR Green II RNA Gel Stain (10,000× in DMSO)

核酸凝胶染料

产品简介

SYBR Green II 是目前已知电泳凝胶中 RNA 检测最灵敏的染料之一，在琼脂糖或聚丙烯酰胺凝胶中最低检测到 100pg RNA 或 ssDNA 的单一一条带(使用 254nm 紫外反射光源照射,并用宝丽来 667 黑白胶片和 SYBR 滤光片拍照)。即使用 300nm 透射光也能检测到 500pg RNA 的单一一条带。SYBR Green II 的灵敏度明显强于溴化乙啶 (EB)。标准琼脂糖迷你胶 EB 最低检出 1.5ng 单链核酸的单一一条带 (使用 300nm 透射光照射并用橙-红明胶滤光片拍照)。

SYBR Green II 在变性琼脂糖/甲醛凝胶和聚丙烯酰胺/尿素凝胶中的检测灵敏度有点降低，然而仍优于 EB。为了获得最大的检测灵敏度，琼脂糖/甲醛凝胶必须在 EB 染色前清洗数小时。相反，不做任何的清洗或脱色步骤,用 SYBR Green II 染色的琼脂糖/甲醛凝胶或聚丙烯酰胺/尿素凝胶能检测到 1ng RNA 单一一条带 (254nm 反射照明) 和 4ng RNA 单一一条带 (300nm 透射照明)。SYBR Green II 在 RNA 检测具备这一卓越灵敏度的特性归因于几个因素，包括优越的荧光量子产量、结合能力和荧光增强。

本品为溶于 DMSO 的 10,000× 的 SYBR Green II RNA 核酸染料，可用于：1) Northern Blot、起始位点作图或 cDNA 制备前对 RNA 产物的小量分析；2) 高分辨率变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 后对 5S rRNA 迁移方式的观察；3) 单链构象多态性 (SSCP) 中的 DNA 染色；4) PCR 扩增前对 DNA 染色。

产品信息

名称	编号	FS0367	FS0367	Storage
SYBR Green II RNA 核酸染料		100ul	500ul	-20℃ 1 年有效
使用说明书		1 份		

光谱特征：SYBR Green II RNA 核酸染料可用常见的紫外反射和透射激发光源，以及手持式紫外灯检测。SYBR Green II 的最大激发波长为 497nm,但还有一个二级激发峰集中在 254nm 附近。与 RNA 结合的 SYBR Green II 的荧光发射集中在 520nm。这些光谱特性让 SYBR Green II 适用于多种凝胶检测仪，从紫外反射(上紫外)和透射仪(下紫外)到氩离子激光器和汞灯激发的凝胶扫描仪。

使用方法

使用前准备工作

使用前将本品取出并回温至室温，使 DMSO 彻底解冻、溶液均一。于离心机上短暂离心确保所有溶液到管底。第一次使用时可将本品分装成多个小份后冻存，小份染料能更快溶解。

染色方法

1. 电泳后染色(后染,推荐)

1-1) 在非变性凝胶或变性聚丙烯酰胺/尿素或琼脂/甲醛凝胶上进行电泳。

【注】：其他凝胶基质未做测试，不确定染色效果如何。

1-2) 稀释 SYBR Green II 储存液：对于非变性凝胶和变性聚丙烯酰胺/尿素凝胶，建议用 TBE 做 1:10,000 倍稀释；对于变性琼脂糖/甲醛凝胶，建议用 TBE 做 1:5,000 倍稀释。

【注】：SYBR Green II 染色对 pH 敏感，为获得最佳的灵敏度，应确认在染色温度下染色液的 pH 值在 7.5-8.0 之间（pH8.0 更佳）。

1-3) 将凝胶小心的放入合适的容器中，比如聚丙烯容器。缓慢加入足量的 SYBR Green II 染色工作液浸没凝胶。用铝箔等盖住容器或将容器置于黑暗处使得染料避光。染色前没有必要洗掉凝胶上的尿素或甲醛。

1-4) 室温轻摇凝胶。聚丙烯酰胺凝胶的最佳染色时间通常为 10-40min，琼脂糖凝胶的通常为 20-40min。凝胶厚度及琼脂糖或聚丙烯酰胺的比例不同，染色时间将有所不同。不需要脱色。染色液需保存在暗处（最好是冷藏）和重复使用 3-4 次。

【注】：用缓冲液制备的染色液置于 4℃ 避光能放置 1 周或更久，置于室温避光能放 3-4 天。用水制备的染色液比缓冲液制备的稳定性差很多，建议 24h 内用完保证最大灵敏度。另外，用缓冲液（pH>8.0 或 pH<1-5）的缓冲液制备的染色液稳定性差很多，染色效率也会降低。

2. 电泳前染色（预染）

2-1) 配制成 SYBR Green II 预制凝胶

临灌胶前，按照每 100ml 凝胶中加入 3-5 μ l SYBR Green II 储存液（10,000 \times in DMSO）的比例加量。需注意到 SYBR Green II 热稳定性较差，不能在过热胶溶液中直接添加，需要等溶液冷却至 50℃ 左右才能加染料。摇晃，震荡或翻转以保证染料充分混匀。

2-2) 按照常规方法进行电泳。

三、观察和凝胶成像

3-1) 使用 300nm 紫外透射光或 254nm 紫外反射光（灵敏度更高）照射染色凝胶。

3-2) 为了最佳灵敏度，建议使用黑白胶片，可用专用的 SYBR Green 照相滤光片（Thermo fisher, #S7569）拍照。许多其他的黄色或绿色明胶或玻璃纸滤光片也能用来拍照，但绝大多数可能会减低灵敏度。EB 染色凝胶拍照用的橙-红滤光片不适合于 SYBR Green II 染色凝胶。

3-3) 用专用的 SYBR Green 照相滤光片（Thermo fisher, #S-7569）和 Polaroid 667 黑白胶片对凝胶进行拍照。染色凝胶基本无背景荧光，当检测少量 RNA，允许长期胶片曝光。对于 300nm 透射，通常 F-stop 设置 4.5 时曝光 1-2s 足够。对于 254nm 反射（特别是手持灯），大约需要曝光 1-1.5min 以得到最大灵敏度。

注意事项

1) 必须警告用户注意，目前尚无关于 SYBR Green II 对人体的致突变性或毒性的数据。由于该染料与核酸结合，应当被看作潜在诱变剂，使用时要小心谨慎。在处理 DMSO 储存液时应特别小心，因 DMSO 能促进有机分子进入组织。强烈建议处理 DMO 储存液需戴双层手套。和所有的核酸染料一样，含 SYBR Green II RNA 核酸染料的溶液需先穿过活性炭再丢弃。活性炭之后必须焚烧来破坏染料。

2) SYBR Green II 可通过乙醇沉淀法从核酸中去除。异丙醇沉淀法去除效果稍差些。正丁醇萃取、氯仿萃取和酚萃取法无法有效去除该染料。

3) 先用 EB 染色的凝胶可接下来用 SYBR Green II 染色，根据电泳后染色（post-staining）的标准步骤操作。与直接用 SYBR Green II 染色相比较可能灵敏度有些降低。

4) 不要在玻璃器皿中稀释 SYBR Green II 储存液，因其会结合到玻璃上。在聚丙烯器皿中稀释储存液。

5) SYBR Green II 不会干扰酶反应。

6) 当用 SYBR Green II 染 Northern 或 Southern Blot 凝胶，建议在预杂交液和杂交液内加入 0.1%-0.3% SDS。

7) 不建议用 254nm 紫外透射仪对凝胶拍照，因紫外光源的轮廓会出现在照片上。需要使用允许 525nm 光透过且排斥其他波长光的滤光片。

8) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。