



SYTO 9 (20×in DMSO)PCR 用核酸染料

产品简介

SYTO 9 绿色荧光核酸染料 (SYTO 9 Green Fluorescent Nucleic Acid Stain) , 是一款优秀的绿色荧光细胞核和染色体复染剂, 能渗透进入原核和真核细胞膜。SYTO 9 高亲和结合 DNA (以及 RNA) , 一旦结合后呈现明显增强的荧光信号, 最大激发和发射波长分别是 483nm 和 503nm。SYTO 9 极其适合作为细菌实验的核复染剂, 因其对革兰氏阳性菌和阴性菌的活细胞和死细胞都能染色。SYTO 9 常常与碘化丙啶 (PI) 联合使用, 用于活/死细菌染色。

SYTO 作为一款灵敏的 DNA 结合染料, 在 RT-PCR 实验中, 表现出许多优异的特征, 包括: 在宽广的染料浓度下产生高浓度可重复的 DNA 溶解曲线, 极低的 PCR 抑制率, 高信噪比和高灵敏度, 使其成为一款理想的 SYBR Green I 的替代染料, 用于 RT-PCR、DNA 溶解曲线分析, 以及环介导温等扩增(LAMP)实验。

本品以为溶于 DMSO 的储存液形式提供, 浓度为 20×。达到 PCR 级别, 使用时仅需根据体系加量使其终浓度为 1×即可。

产品组成

编号	规格				保存方法
	组分				
SYTO 9 绿色荧光 PCR 专用核酸染料(20×in DMSO)	1ml	10×1ml	50×1ml	100×1ml	-20°C 避光
说明书	1 份				

保存与运输方法: 2-8°C 避光保存, 有效期一年。也可置于 -20°C 保存, 有效期 2 年, 冰袋运输。

使用方法(RT-PCR)

1.按照一下表格配制反应体系 (仅供参考, 根据实际情况或参考文献资料进行优化调整)

组分	终浓度 (2×Master Mix)
Hot-start Taq DNA polymerase	1.25u per reaction
dNTP Mixture	0.25mM each
Tween 20	1%
BSA	0.1%
Tris,pH 8.4	50mM
NH ₄ Cl	10mM
KCl	20mM
MgCl ₂	2.5mM
SYTO 9	2×



[注意] :

- ①根据选择的仪器类型, 加入或不加入适当浓度的参比染料 ROX。
 - ②根据体系内选择 Taq 酶类型, 对其进行优化。热启动酶能得到最好的结果, 但需要调整和优化反应体系。
2. 根据检查样本数于冰上配制足量不含 DNA 的 2×反应体系 (master mix), 按照以上顺序混合各组分 ; 水→Taq polymerase buffer→dNTPs→MgCl₂→SYTO 9→Hot-start Taq DNA polymerase。
3. 将以上体系混匀后分装至 qPCR 管或平板内。根据下表来配制 1×反应体系 (master mix)。

DNA	模板 DNA (< 500ng/reaction)
2×master mix	25μl
Primer 1	2μl (5μM)
Primer 2	2μl (5μM)
ddH ₂ O	Added to 50.0μl

4. 在合适的仪器内启动 qPCR 反应并记录退火或延伸步骤的荧光信号。【可参考以下程序】

程序	温度	时间	循环次数
酶激活	95°C	5min	1
变性	96°C	10s	40
退火&延伸	96°C	30s	

[注意] :

- ①进行 qPCR 反应, 需要设置阳性和阴性对照。
- ②qPCR 扩增所需的温度程序与相同模版引物设定的标准 PCR 程序没有差异。
- ③检测选用 FAM 或 FAM/SYBR 通道。

应用示例 (来自文献)

一、LAMP 实验 (文献 : PMID: 31681184; PMCID: PMC6803449)

1.1 文章目的 : 比较 23 种 DNA 染料在实时 LAMP 检测 Salmonella Enteritidis (S. Enteritidis) strain 的表现差异。

1.2 LAMP 实验方案 :

The LAMP assay was carried out in 10 μl master mixture containing 0.2 μM of F3; 0.2 μM of B3; 1.4 μM of FIP; 1.4 μM of BIP; 0.8 μM of LF; 0.8 μM of LB; 1.4 mM dNTP mix (DNA Technology, Aarhus, Denmark), 0.5 M Betaine (Sigma-Aldrich, Denmark), 4 U of Bst 2.0 DNA polymerase (New England BioLabs), 1× isothermal amplification buffer (comprising 20 mM Tris-HCl, 10 mM (NH₄)₂SO₄, 50 mM KCl, 2 mM MgSO₄, and 0.1% Tween® 20, pH 8.8), various concentrations ranging from 0.5 μM to 10 μM of each dye that included SYTO 9, SYTO 13, SYTO 16, SYTO 24, SYTO 60, SYTO 62, SYTO 64, SYTO 82, SYBR Green I, SYBR Gold, YOPRO1, TOTO1, TOTO3, BOBO3, POPO3, and TOPRO3; Eva Green; Boxt; Miami Green, Miami Yellow, and Miami Orange, Pico 488and Nuclear Green DCS1, sterilized water and DNA template.

The reactions were performed at 65°C for 60 min and the reactions were then terminated by heating to 90°C for 10 min. The fluorescent signal was recorded every minute of amplification.

二、RT-PCR 实验 (文献 : PMID: 27886052; PMCID: PMC5133880)



2.1 文章目的：基于熔解曲线的多重 RT-qPCR 实验来同时检测 4 种 HCoV_s。此文用 SYTO 9 替代 SYBR Green I 作为核酸染料。

2.2 RT-PCR 实验方案：

The RT-qPCR was performed using QIAGEN OneStep RT-PCR Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) with SYTO 9 as the fluorescent dye. Thirty μ L reactions including 3 μ L template input were run on a Light Cycler 96 RT-qPCR System (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Reaction conditions were: 30 min RT at 50 °C, 15 min at 94 °C for inactivation of reverse transcriptase (RT), followed by 40 cycles of 94 °C for 30 s, 50 °C for 30 s and 72 °C for 1 min. Melting curve analysis was performed under the condition of 95 °C for 60 s, 40 °C for 60 s, 65 °C for 1 s, then followed by a slow increase from 65 °C to 95 °C with a speed of 0.07 °C per second.

Reaction conditions were: 30 min RT at 50 °C, 15 min at 94 °C for inactivation of reverse transcriptase (RT), followed by 40 cycles of 94 °C for 30 s, 50 °C for 30 s and 72 °C for 1 min. Melting curve analysis was performed under the condition of 95 °C for 60 s, 40 °C for 60 s, 65 °C for 1 s, then followed by a slow increase from 65 °C to 95 °C with a speed of 0.07 °C per second.

参考文献

[1] Stiefel P, Schmidt-Emrich S, Maniura-Weber K, Ren Q. Critical aspects of using bacterial cell viability assays with the fluorophores SYTO9 and propidium iodide. BMC Microbiol. 2015 Feb 18;15:36. doi: 10.1186/s12866-015-0376-x. PMID: 25881030; PMCID: PMC4337318.

[2] McGoverin C, Robertson J, Jonmohamadi Y, Swift S, Vanholsbeeck F. Species Dependence of SYTO 9 Staining of Bacteria. Front Microbiol. 2020 Sep 3;11:545419. doi: 10.3389/fmicb.2020.545419. PMID: 33013779; PMCID: PMC7494787.

[3] Quyen TL, Ngo TA, Bang DD, Madsen M, Wolff A. Classification of Multiple DNA Dyes Based on Inhibition Effects on Real-Time Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP): Prospect for Point of Care Setting. Front Microbiol. 2019 Oct 15;10:2234. doi: 10.3389/fmicb.2019.02234. PMID: 31681184; PMCID: PMC6803449.

[4] 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. doi: 10.1016/j.ab.2005.01.046. PMID: 15802126.

注意事项

- 1) 本品保存和使用过程中请注意避光。
- 2) 本品使用前，请置于室温回温，之后用漩涡混匀器完全混匀。本品高度稳定，但染料在保存的过程中会吸附到管壁上，漩涡混匀数秒使其充分溶解。
- 3) 目前没数据表明 SYTO 9 具致畸性或毒性。由于该探针与核酸结合，可能被当作一种潜在的突变剂，需做适当的防护措施。由于 DMSO 能促进有机分子进入组织，此储存液在使用的过程中务必妥善操作。根据当地的政策来处理使用本品后的废液。
- 4) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。



相关产品

货号	名称	规格
FS0366	SYBR Green I (10,000× in DMSO) 核酸凝胶染料	100μl
FS0367	SYBR Green II RNA Gel Stain (10,000× in DMSO) 核酸凝胶染料	100μl
FS0368	Goldview Nucleic Acid Gel Stain (10,000×) 核酸染料 (10,000×)	1ml
FS0369	FSRed Nucleic Acid Gel Stain (效果同 GelRed) 核酸染料 (10,000× 水溶液)	500μl
FS0370	FSGreen Nucleic Acid Gel Stain (效果同 GelGreen) 核酸染料 (10,000× 水溶液)	500μl
FS3999	SYTO 9 (20×in DMSO)PCR 用核酸染料	1ml
FS1202	Propidium Iodide 碘化丙啶 (粉末)	10mg
FS1204	DAPI 细胞核探针	10mg
FS1209	Ethidium Monoazide Bromide (EMA) 叠氮溴化乙锭	5mg
FS1368	PicoGreen dsDNA Reagent 双链 DNA 检测试剂	100ul

